

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**"TRASPLANTE EXPERIMENTAL DE PANCREAS EN EL CERDO.  
ESTUDIO DE DIVERSOS METODOS DE CONTROL DE LAS COMPLICACIONES  
PRECOCES DERIVADAS DEL DRENAJE DE LA SECRECION EXOCRINA".**

**TESIS DOCTORAL**

**FERNANDO J. TUREGANO FUENTES**

**1992**

Memoria que presenta el Licenciado en Medicina y Cirugía Fernando J.  
Turégano Fuentes para la obtención del Grado de Doctor.

DIRECTOR: Prof. J.L. Balibrea Cantero

CODIRECTOR: Dr. A. Larrad Jiménez

Trabajo experimental realizado en el Pabellón de Medicina y Cirugía  
Experimental del Hospital General Gregorio Marañón de Madrid.

Memoria que presenta el Licenciado en Medicina y Cirugía Fernando J.  
Turégano Fuentes para la obtención del Grado de Doctor.

DIRECTOR: Prof. J.L. Balibrea Cantero

CODIRECTOR: Dr. A. Larrad Jiménez

Trabajo experimental realizado en el Pabellón de Medicina y Cirugía  
Experimental del Hospital General Gregorio Marañón de Madrid.

A todas las personas que me han apoyado  
durante el tiempo de realización de este  
trabajo.

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas que, con su colaboración y ayuda, han hecho posible la realización de este trabajo, y de manera especial:

Al Prof. J.L. Balibrea Cantero, por haber aceptado la dirección de esta Tesis.

Al Dr. A. Larrad Jiménez, codirector de la misma, por su inquietud científica y constante estímulo.

Al Prof. P. García Barreno, director del Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del H.G. Gregorio Marañón, por haberme proporcionado los medios necesarios para la realización de este estudio.

A la Dra. C. García Menéndez, por su imprescindible e incondicional colaboración.

A los médicos Residentes del Servicio de Cirugía General II del H.G. Gregorio Marañón, y al Dr. M. Valcarce de Angulo, por las muchas horas dedicadas a la labor quirúrgica de este estudio.

A los Dres. M. López Lazareno (Servicio de Bioquímica) y M. López de la Riva (Servicio de Anatomía Patológica), por su desinteresada ayuda.

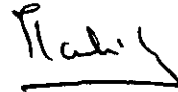
A todo el personal del Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del H.G. Gregorio Marañón de Madrid.

## INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

La Tesis Doctoral "Trasplante experimental de páncreas en el cerdo. Estudio de diversos métodos de control de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina" reúne las condiciones exigidas de contenido y forma para ser -- presentada ante el Tribunal calificador.

V.º B.º  
EL TUTOR (2)

El Director de la Tesis



Fdo.: \_\_\_\_\_

(fecha y firma)

N.I.F.:

Fdo.: Prof. J.L. Balibrea

(fecha y firma)

N.I.F.:

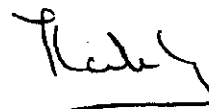
## INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

La Tesis Doctoral "Trasplante experimental de páncreas en el cerdo. Estudio de diversos métodos de control de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina", realizada por D. Fernando Turégano Fuentes, ha sido considerada por el Consejo del Departamento apta para ser presentada ante el Tribunal Calificador.

Fecha reunión  
Consejo Departamento

15 de Junio 1.992

El Director del Departamento



Fdo.: Prof. J.L. Balibrea

(fecha y firma)



PEDRO GARCIA BARRENO, Director del Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital "Gregorio Marañón" de Madrid.

CERTIFICA: que D. FERNANDO J. TUREGANO FUENTES ha realizado el trabajo experimental correspondiente al proyecto de investigación: "TRASPLANTE EXPERIMENTAL DE PANCREAS EN EL CERDO. ESTUDIO DE DIVERSOS METODOS DE CONTROL DE LAS COMPLICACIONES PRECOCES DERIVADAS DEL DRENAJE DE LA SECRECION EXOCRINA", base de su Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, en el Pabellón de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General "Gregorio Marañón" de Madrid.

Lo que firmo en Madrid, a petición del interesado y a efectos de justificación de su Tesis Doctoral, a día 8 de Junio de 1992.

Fdo.

Pedro García Barreno



## **INDICE**



# I. INTRODUCCION

I.1. Justificación del Trasplante Clínico de páncreas.....	2
I.2. Antecedentes históricos.....	6
I.3. Indicaciones actuales y perspectivas futuras.....	9
I.4. Problemas que plantea el Trasplante de páncreas.....	12
I.4.1. Problemas generales	
I.4.1.1. La preservación del órgano "ex-vivo".....	13
I.4.1.2. El diagnóstico precoz y tratamiento del rechazo.....	14
I.4.1.3. La trombosis vascular.....	16
I.4.2. Problemas específicos	
I.4.2.1. El drenaje de la secreción exocrina.....	18
I.4.2.2. La pancreatitis del injerto.....	21
I.4.2.3. Infecciones intraabdominales relacionadas	22
I.4.2.4. Trasplante segmentario vs. total.....	23
I.5. Trasplante experimental. Modelos animales para el estudio de prevención de las complicaciones no inmunológicas.....	25
I.5.1. Modelos de Autoinjerto segmentario.....	25
I.5.2. Prevención de la Pancreatitis del injerto y de las complicaciones sépticas intraabdominales.....	30
I.5.2.1. Control de la secreción exocrina.....	30
I.5.2.2. Refuerzo de la anastomosis pancreatoyeyunal	32
I.5.2.3. "Intestinalización" del injerto.....	35

# II. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS 38

# III. SUJETOS DE EXPERIMENTACION. MATERIAL Y METODOS.

III.1. Sujetos de experimentación.....	40
III.2. Fases del estudio.....	41
III.3. Metodología quirúrgica general.....	42
III.4. Metodología quirúrgica particular.....	49
III.4.1. Primera Fase : Pancreatectomía total.....	49

III.4.2. Segunda Fase : Modelo de Autoinjerto segmentario.	53
III.4.3. Tercera Fase : Modelo de Aloinjerto segmentario..	61
III.4.3.1. Ensayo 1 : Montaje del modelo.....	61
III.4.3.2. Ensayo 2 : Estudio de diversos métodos de prevención de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina .....	65
III.5. Duración del período de observación postoperatorio. Estudio necrópsico.....	75
III.5.1. Valoración macroscópica de la pancreatitis y las complicaciones sépticas intraabdominales.....	76
III.6. Estudio histológico. Parámetros de pancreatitis y parámetros de rechazo.....	78
IV. RESULTADOS	
IV.1. Primera Fase : Pancreatectomía total.....	81
IV.2. Segunda Fase : Modelo de Autoinjerto.....	85
IV.3. Tercera Fase : Modelo de Aloinjerto.	
IV.3.1. Resultados de viabilidad.....	96
IV.3.2. Determinaciones bioquímicas y hormonales.....	99
IV.3.2.1. Efecto del SMS 201-995 sobre el funciona- miento endocrino del injerto.....	105
IV.3.2.2. Efecto del SMS 201-995 sobre los parámetros bioquímicos de pancreatitis del injerto.....	111
IV.3.3. Complicaciones sépticas y pancreatitis.....	113
IV.3.4. Estudio histológico.....	126
V. DISCUSION	138
V.1. Modelo de Autoinjerto segmentario. ¿Es factible el modelo de autoinjerto pancreático en el cerdo?.....	140
V.2. El problema vascular : modelos de Auto- y Aloinjerto.....	149
V.3. El control de la secreción exocrina : Pancreatitis y complicaciones sépticas intraabdominales.....	167

V.3.1. Hormonas inhibidoras de la secreción exocrina : Somatostatina.....	173
V.3.2. Empleo del SMS 201-995 en fístulas pancreáticas y pancreatitis.....	176
V.3.3. Empleo del SMS 201-995 en el trasplante pancreático : efecto sobre la pancreatitis del injerto.....	178
V.4. Protección de la anastomosis pancreatoyeyunal mediante Adhesivo Biológico de Fibrina.....	186
V.5. "Intestinalización" del injerto pancreático.....	191
VI. CONCLUSIONES	196
VII. BIBLIOGRAFIA	199

### **ABREVIATURAS EMPLEADAS**

<b>DMID</b>	: Diabetes Mellitus Insulino Dependiente
<b>IPTR</b>	: Registro Internacional de Trasplante Pancreático
<b>TxRP</b>	: Trasplante Experimental de Páncreas
<b>TxCP</b>	: Trasplante Clínico de Páncreas
<b>AutoxP</b>	: Autoinjerto Pancreático
<b>AloxP</b>	: Aloinjerto Pancreático
<b>SMT</b>	: Somatostatina
<b>ABF</b>	: Adhesivo Biológico de Fibrina
<b>IVGTT</b>	: Test de Sobrecarga Intravenosa de Glucosa
<b>AHC</b>	: Arteria Hepática Común
<b>AMS</b>	: Arteria Mesentérica Superior
<b>AP</b>	: Arteria Pancreática
<b>CsA</b>	: Ciclosporina A
<b>P-Y</b>	: Pancreatoyeyunal
<b>SMS 201-995</b>	: Análogo de Somatostatina (acetato de octreótido).

## **I. INTRODUCCION**

### 1.1. JUSTIFICACION DEL TRASPLANTE CLINICO DE PANCREAS.

Los intentos de reemplazar la perdida función endocrina y normalizar el metabolismo de la glucosa en la diabetes mellitus insulín dependiente (DMID) han seguido varios caminos en los últimos años. El uso de dispositivos mecánicos, tanto externos como implantables, y las pautas de inyecciones múltiples guiadas por la automonitorización de la glucemia, en un intento de imitar la regulación fisiológica de la insulina, han conseguido la casi normalización de los perfiles glucémicos.

Sin embargo, estas modalidades de terapia intensiva, caracterizadas por la ausencia de un sensor automático de la glucemia, son caras, requieren una extraordinaria adaptación y colaboración del paciente, y van acompañadas de un riesgo significativo de hipoglucemia, tanto leve como severa (DCCT Research Group, 1991). Por ello, estos métodos probablemente sean aplicables a sólo una fracción de los pacientes con DMID.

Por otro lado, los avances tecnológicos experimentados en los últimos años en la obtención y purificación de islotes pancreáticos productores de insulina hacen vislumbrar un futuro prometedor para esta técnica de trasplante; sin embargo, existen aún barreras importantes como la determinación correcta de la masa celular necesaria para restaurar la normoglucemia, métodos idóneos de obtención y preservación de células viables, valoración de los lugares más adecuados de implantación y revascularización, valoración de la duración funcional de los trasplantes y del efecto diabético de una inmunosupresión

continuada, y el diagnóstico y tratamiento del rechazo (Ricordi y cols.,1991; Ricordi y cols.,1992).

La justificación del trasplante clínico de páncreas en nuestros días sigue siendo la misma que motivó al grupo pionero de la Universidad de Minnesota (Lillehei y cols.,1970) al presentar sus primeros resultados ante la American Surgical Association en 1970; las complicaciones oculares, renales, cardiovasculares y neurológicas de los pacientes diabéticos son consecuencia de un metabolismo alterado. Observaciones clínicas, experimentales y hallazgos epidemiológicos dan soporte suficiente a la hipótesis de que el mantenimiento de un estado euglucémico constante puede prevenir, frenar ó incluso revertir la progresión de esas complicaciones y mejorar la calidad de vida del paciente diabético de tipo I (Johnson y cols.,1990; Kennedy y cols.,1990; Orloff y cols.,1990; Aridge y cols.,1990; Bentley y cols.,1990; Nathan y cols.,1991; Rasmussen y cols.,1992).

Desde el primer trasplante clínico, realizado en 1966 (Kelly y cols., 1967), hasta Julio de 1977, sólo el 2% de los 57 primeros trasplantes comunicados (al American College of Surgeons/ National Institute of Health Transplant Registry) funcionó más de doce meses (Sutherland y cols.,1985).

Entre Diciembre de 1966 y Agosto de 1990, 2.735 trasplantes clínicos de páncreas habían sido comunicados al International Pancreas Transplant Registry(IPTR) (Sutherland y cols.,1991a), incluyendo 446 realizados en 1988 y 554 en 1989, y con unos porcentajes de funcionamiento del injerto al año(cálculo actuarial) y supervivencia del paciente del 63% y 89% respectivamente.

Si se analizan los 2.639 trasplantes en 2.477 pacientes comunicados al IPTR hasta el 15 de Junio de 1990, considerando cinco periodos de tiempo, observamos que la supervivencia de injertos y pacientes ha seguido una progresión incuestionable:

---

<u>Periodo de tiempo</u>	<u>injertos</u>	<u>Pacientes</u>	<u>No funcionantes por fallos técnicos</u>
1966 a 1977 (n=64)	5%	41%	19%
1978 a 1982 (n=201)	21%	71%	24%
1983 a 1985 (n=519)	39%	78%	26%
1986 a 1987 (n=672)	53%	86%	23%
1988 a 1990 (n=1.183)	70%	91%	13%

---

Si se evalúan aquellos en que no hubo fallos técnicos, los porcentajes de supervivencia del injerto al año fueron : 6%(n=52), 26%(n=152), 52%(n=383), 66%(n=517) y 80%(n=1.037) respectivamente.

Analizando los datos del IPTR publicados el año anterior, de los 1220 trasplantes registrados en el periodo 1986-1989 funcionaban 835 en el momento del análisis (el mayor de 11 años). 473 aparecían como fallos por rechazo, recidiva de la enfermedad ó causa desconocida; 469 injertos (casi un 25%) constaban en el IPTR como habiendo fallado por razones técnicas (234 trombosis primarias, 12% de incidencia); 107 infecciones



locales que obligaron a la extirpación, 5% de incidencia; 128 fallaron por otras complicaciones no inmunológicas (Sutherland y cols., 1990).

En el último IPTR publicado, observamos una mayoría en estos porcentajes de fallos técnicos para el período 1986-1990. Así, de los 1.855 trasplantes comunicados, sólo 301(16%) fallaron por razones técnicas, incluyendo 188 por trombosis(11%) y 63 por infección(3%).

Aunque los porcentajes de supervivencia del injerto fueron mayores en los de trasplante simultáneo de riñón, la supervivencia de los pacientes fue menor en este grupo(88% al año) en relación a los trasplantes después del renal(93%) ó trasplante pancreático sólo(91% al año) (Sutherland y cols., 1991a).

Con fecha 30 de Junio de 1989, 128 instituciones habían comunicado trasplantes clínicos de páncreas al IPTR, y el número total de Centros con programas activos de trasplante durante el período 84-89 era de 89.

El número de las instituciones que se incorporan activamente a programas de trasplante combinado pancreato-renal continúa creciendo en los últimos años (Boudreaux y cols., 1991a).

Se observa una mayor tendencia a realizar trasplantes pancreáticos, sólo y combinados, en Norteamérica que en Europa; así, las tres series más numerosas son norteamericanas (grupos de Minnesota, Wisconsin y Iowa) (Brooks, 1989). En Europa, los grupos de Estocolmo, Lyon y Munich, entre otros, han sido pioneros en diferentes técnicas.

En nuestro país existen muy pocos grupos y con series clínicas muy cortas, a excepción del grupo del H. Clínico y Provincial de Barcelona (Gil-Vernet y cols., 1985a; Gil-Vernet y cols., 1985b; Esmatjes y cols., 1990; Pera Madrazo y cols., 1990; Esmatjes y cols., 1992; Gilabert y

cols.,1992), que también destaca por sus trabajos experimentales (Prieto y cols.,1988; Targarona y cols.,1990; Targarona y cols.,1992).

## **1.2. ANTECEDENTES HISTORICOS.**

El camino recorrido por el trasplante de páncreas hacia su aceptación y aplicabilidad clínica ha estado sembrado de numerosos problemas, extensamente investigados en estudios experimentales. Estos problemas, causantes de peores resultados que en trasplantes de otros órganos, han estimulado una actividad investigadora constante y mantenida en los últimos años.

Los objetivos principales de esta investigación han sido el encontrar técnicas seguras de manejo de la secreción exocrina, evitar la trombosis vascular y preservar la función endocrina.

Sin embargo, la multitud de modelos experimentales utilizados, y los potenciales factores de interferencia, han complicado la interpretación de los resultados y el estudio comparativo de las diferentes técnicas.

El primer trasplante clínico de páncreas, en 1966, vino lógicamente precedido y acompañado de intensos estudios experimentales en animales (Bergan y cols.,1965; Dejode y cols.,1962). Estos estudios se remontan a finales del siglo pasado, en que J.C. Brunner hace sus primeras observaciones en perros pancreatectomizados, P. Langerhans identifica sus islotes celulares, y Hedon y Minkowsky publican sus primeras experiencias en perros, relacionando pancreatectomía y diabetes.

Hubo algunos intentos anecdóticos de trasplante del órgano, aún sin una base científica clara, como el publicado por Williams P.W.(1894)

sobre un trasplante subcutáneo de páncreas animal a un joven diabético de 15 años.

Esta base científica comienza a adquirir solidez en 1922 con Banting y Best, quienes, después de haber producido una diabetes por pancreatectomía en un perro, consiguen disminuir la glucemia del animal administrando un extracto de páncreas.

Así pues, y de forma curiosa, la mayoría de los primeros trasplantes experimentales de páncreas se realizaron como modelo de estudio del origen y mecanismo de acción de la insulina, en lugar de estudiar una eventual aplicación clínica del trasplante.

A pesar de esta diferencia de objetivos, estos primeros estudios experimentales en perros sentaron las bases del concepto de trasplante clínico de páncreas (TxCP); no sólo demostraron que el aloinjerto pancreático (AloxP) era capaz de mantener una glucemia normal en el animal pancreatectomizado, sino que dicho AloxP no producía hipoglucemia en un receptor no pancreatectomizado, ilustrando así la capacidad de autoregulación de una secreción adecuada de insulina en ausencia de inervación normal.

Toda la investigación posterior en el trasplante experimental de páncreas (TxEP) se ha centrado en cuestiones de aplicabilidad clínica: técnicas quirúrgicas (vasculares y de control de la secreción exocrina), métodos de preservación, y métodos de prevención, diagnóstico y tratamiento del rechazo.

El trabajo experimental en el terreno del trasplante de páncreas se ha visto condicionado por el pequeño número de modelos animales con diabetes mellitus de desarrollo espontáneo; por ello, el estado

diabético debe ser inducido farmacológicamente con estreptozotocina ó aloxano, ó mediante pancreatectomía quirúrgica.

La mayoría de estudios experimentales que tratan de aspectos técnicos del trasplante de páncreas han sido desarrollados en el perro. Ya en 1957 se describió un método de transplante del proceso uncinado mediante sutura vascular directa en el perro, pero sin poder valorar el funcionamiento del injerto (Lichtenstein y cols., 1957); algo más tarde se trasplantó la cola del páncreas a la ingle de un perro pancreatectomizado, con una supervivencia del injerto de dos semanas (Reemtsma y cols., 1963).

Los primeros modelos en los años 60 fueron siempre de aloinjerto, en situación subcutánea (Dejode y cols., 1962) ó intraperitoneal (Bergan y cols., 1965; Idezuki y cols., 1968), y en algunos receptores se consiguió mantener un estado euglucémico durante algún tiempo. Sin embargo, el análisis detallado de las complicaciones técnicas y la interpretación de los resultados se veía enormemente dificultado por los eventuales rechazos.

La introducción subsiguiente de modelos de autoinjerto del lóbulo izquierdo del páncreas canino ofreció la oportunidad de estudiar los aspectos técnicos en ausencia del rechazo inmunológico (Mitchell y cols., 1966; Mitchell y cols., 1967). Más tarde se desarrollaron técnicas de autoinjerto de todo el órgano y de autoinjerto pancreatoduodenal en el perro (Toledo-Pereyra y cols., 1975).

En los últimos años numerosos estudios han utilizado estas técnicas con todo tipo de modificaciones, en un intento de disminuir las complicaciones derivadas de la técnica quirúrgica, fundamentalmente de la técnica vascular y del drenaje de la secreción exocrina. Esta

proliferación de estudios es una prueba clara de los numerosos interrogantes que aún plantea el TxCP, y que hace que la mayoría de las instituciones con programas avanzados de TxCP tengan también programas simultáneos de trasplante experimental.

### **1.3. INDICACIONES ACTUALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS DEL TRASPLANTE**

#### **PANCREATICO**

El trasplante de páncreas se ha venido indicando, en su mayoría, a pacientes diabéticos con enfermedad renal avanzada y sometidos a trasplante renal simultáneo. De esta manera se ponía fin al dilema sobre si estaba justificado el intentar curar la diabetes mediante un procedimiento quirúrgico experimental obligatoriamente seguido de tratamiento inmunosupresor permanente.

Sin embargo, en nuestros días, y en opinión de muchos, esta indicación debe ser considerada como un paso más en el proceso evolutivo del trasplante clínico de páncreas, puesto que sólo el trasplante precoz puede prevenir el desarrollo de las temidas lesiones secundarias de la diabetes (Groth, 1989)

Así, el trasplante pancreático sólo (no combinado con el renal), a pesar de su aún escasa realización en comparación con el combinado, tiene hoy día convencidos defensores en algunas instituciones, habiendo sido realizado en las siguientes indicaciones:

A) Nefropatía diabética en estadio preurémico: los pacientes diabéticos con proteinuria manifiesta ya serían candidatos, sirviendo una filtración glomerular de 30-40 ml/min. como valor límite por debajo del cual se indicaría ya un trasplante combinado.

B) Retinopatía diabética en estadio preproliferativo.

C) Pacientes con problemas de control metabólico:

- Diabetes hiperlábil
- Síndrome de la resistencia a la insulina subcutánea
- Dolor intratable por neuropatía diabética
- El denominado "Síndrome de insensibilidad a la hipoglucemia"

(Bolinder y cols.,1991)

El trasplante pancreático sólo (no combinado con renal) estaría únicamente justificado si los riesgos de la cirugía e inmunosupresión fueran similares ó menores que los de la enfermedad. En la práctica, sin embargo, no es un juicio fácil de hacer ni una decisión fácil de tomar por parte del paciente y del equipo médico, debiendo primar siempre la opinión libre e informada del paciente y su consideración sobre la calidad de vida (Bach y cols.,1988).

En opinión del grupo pionero de la Universidad de Minnesota, que constituye el grupo de referencia, la mayoría en los resultados en candidatos diabéticos no urémicos se puede conseguir, en un futuro próximo, mejorando el tipaje HLA-DR, aumentando la inmunosupresión profiláctica con más globulina antilinfocítica, y con un tratamiento más precoz del rechazo basado en caídas menores de la amilasuria (Sutherland y cols.,1991b).

En la serie global de trasplante clínico de este grupo, el 25% de los trasplantes realizados son retrasplantes, con resultados comparables a los injertos iniciales; ello da un índice del grado de aceptación de esta modalidad terapéutica entre algunos grupos (Morel y cols.,1991a).

Sin embargo, la opinión de otros es mucho más restrictiva, aceptando sólo el trasplante combinado. Aún así, consideran que está todavía por determinar si la consecución de un estado euglucémico libre de la administración de insulina justifica el mayor número de ingresos hospitalarios y complicaciones derivadas del trasplante pancreático, en relación al trasplante renal sólo, y en ausencia de un efecto claro y demostrable sobre las complicaciones de la diabetes (Nathan y cols.,1991; Allen y cols.,1992). Esta corriente de opinión tiene convencidos defensores que consideran que el único modo de determinar las indicaciones correctas del trasplante de páncreas sería mediante estudios controlados (Tattersall, 1990), algo que parece de difícil ejecución práctica.

Sin duda en un futuro, quizás próximo, estas divergencias van a verse atemperadas por un eventual desarrollo y perfeccionamiento de los trasplantes de islotes, cuyas experiencias clínicas iniciales parecen prometedoras (Ricordi y cols.,1992), así como por el creciente interés por los xenoinjertos y las ventajas de tener acceso a una fuente ilimitada de tejidos y órganos viables (Tollemar y cols.,1992; Korsgren y cols.,1992).

#### **I.4. PROBLEMAS QUE PLANTEA EL TRASPLANTE DE PANCREAS**

A pesar de la clara mejoría en los resultados del trasplante clínico de páncreas en los últimos años, éstos siguen siendo inferiores a los de los trasplantes de otros órganos, debido a una serie de problemas aún no resueltos.

Algunos de estos problemas, aunque exacerbados en el trasplante pancreático, son comunes a los trasplantes de otros órganos, y son fundamentalmente:

- 1) La preservación del órgano "ex-vivo"
- 2) El diagnóstico precoz y tratamiento del rechazo
- 3) La trombosis vascular

Otros son problemas específicos del órgano, como:

- 1) Problemas técnicos relacionados con el drenaje de la secreción exocrina.
- 2) La pancreatitis del injerto
- 3) Infecciones intraabdominales relacionadas
- 4) El trasplante segmentario frente al trasplante total



#### **I.4.1. PROBLEMAS GENERALES**

##### **I.4.1.1. La preservación del órgano "ex-vivo"**

La logística del trasplante clínico de órganos requiere métodos adecuados de preservación del injerto hasta el momento del trasplante.

A finales de 1960 ya se había demostrado en el páncreas canino que la simple perfusión e introducción en solución de Ringer frío en condiciones hiperbáricas lograba la preservación del injerto hasta 24 horas (Idezuki y cols., 1969).

Desde entonces se han realizado muchos estudios de preservación de órganos utilizando métodos más sofisticados, demostrándose que el páncreas canino puede preservarse hasta 96 horas (Fujino y cols., 1991). Sin embargo, las horas de tolerancia del páncreas porcino son menores (Dafoe y cols., 1986), lo que sugiere la existencia de una variabilidad específica de especie en este punto.

En el humano se están extendiendo cada vez más los tiempos de preservación; así, desde los trabajos que comunicaban un tiempo máximo de tolerancia de 10 horas (Largiader y cols., 1984), hasta el último análisis del registro del IPTR (Sutherland y cols., 1991a), se ha pasado a tiempos de preservación superiores a las 24 horas con solución de Wisconsin, evidenciando además que la supervivencia de los injertos preservados de 24 a 30 horas ha sido tan buena como en los injertos preservados menos tiempo (Morel y cols., 1990).

#### 1.4.1.2. El problema del rechazo

##### a) Prevención

La prevención del rechazo se puede lograr de dos formas, mediante estudios de histocompatibilidad ó mediante una terapéutica inmunosupresora óptima.

Innumerables estudios han sido publicados sobre los efectos de varios regímenes inmunosupresores en la supervivencia de aloinjertos pancreáticos en ratas, perros, cerdos y primates, pero la impresión general es que la inmunosupresión convencional es menos efectiva en el trasplante de páncreas que en el de otros órganos como el corazón ó riñón.

Sin embargo, una intensa actividad investigadora prosigue hoy día en el estudio de nuevos agentes inmunosupresores y combinaciones de los mismos (Imai y cols.,1990); entre estas líneas de investigación destaca la de los compuestos que alteran la cascada del ácido araquidónico inhibiendo la formación de leucotrienos, mediadores químicos de la alergia e inflamación y que también parecen desempeñar un papel importante en la inmunidad celular y el rechazo de órganos (Horichi y cols.,1991; Konishi y cols.,1991).

Un problema adicional lo constituye la demostrada toxicidad de la ciclosporina A sobre la célula  $\beta$  en tratamientos prolongados, con el efecto diabetógeno consiguiente (Yale y cols.,1985; Hahn y cols.,1986; Van Schilfgaarde y cols.,1987; Basadonna y cols.,1988; Garvin y cols.,1988; Yale y cols.,1988; Müller y cols.,1988; Wahlstrom y cols.,1990).

## b) Diagnóstico

El diagnóstico precoz del rechazo reviste extrema importancia. Es bien conocido que la elevación de la glucemia es un indicador tardío, estimándose necesaria la destrucción del 90% ó más de la masa celular insular antes de que se eleve la glucemia (Königsrainer y cols., 1991).

La búsqueda de otros marcadores precoces del rechazo como la medición de amilasa en orina que, aunque no completamente fiable (Munda y cols., 1987; Ekberg y cols., 1988a; Perkal y cols., 1992), es de empleo rutinario en clínica, ha dado auge a las técnicas de derivación urinaria de la secreción exocrina, y un intenso esfuerzo investigador prosigue hoy día en este sentido.

Fruto de este esfuerzo son las numerosas publicaciones sobre el diagnóstico del rechazo mediante Resonancia Magnética Nuclear (Morris y cols., 1987; Secchi y cols., 1990a), eco-doppler (Gilabert y cols., 1992), punción-biopsia pancreática con aguja fina (Ekberg y cols., 1988a; Ekberg y cols., 1989), citología en jugo pancreático (Klima y cols., 1988; Klima y cols., 1989; Königsrainer y cols., 1991) y orina (Mittal y cols., 1990; Källén y cols., 1991b), niveles de Interleukina-2 y Prostaglandinas en orina y suero (Takahashi y cols., 1987; Soon-Shiong y cols., 1989; Georgi y cols., 1989; Perkins y cols., 1990), insulina en orina (Thomas y cols., 1988; Källén y cols., 1990), tripsina inmunoreactiva en orina (Källén y cols., 1991b), diversos marcadores serológicos relacionados con enzimas pancreáticas (Kuroda y cols., 1988; Marks y cols., 1991; Källén y cols., 1992; Perkal y cols., 1992), etc.

### c) Tratamiento

La información disponible hoy día sobre el tratamiento del rechazo pancreático es escasa y de tipo anecdótico, y esto no debe sorprender en vista de las dificultades que encierra todavía el diagnóstico precoz del mismo.

#### I.4.1.3. La trombosis vascular

El estudio de la vascularización del injerto pancreático ha abarcado clásicamente dos aspectos diferentes, uno relativo a la prevención de las trombosis y el otro al lugar de la anastomosis venosa.

Es bien sabido que el páncreas es un órgano de bajo flujo, y en el injerto heterotópico se ven alteradas las condiciones hemodinámicas que la circulación esplénica le proporciona. Esto hace que las trombosis tanto arteriales como venosas sean causa frecuente de pérdida del injerto (hasta un 24% en algunas series clínicas) (Schlumpf y cols., 1990a; Brons y cols., 1991).

Estas trombosis obligan a una extirpación urgente del injerto (generalmente dentro de las primeras 24 horas), habiéndose comunicado recientemente casos de retrasplante inmediato con muy buenos resultados (Boudreaux y cols., 1991b).

La trombosis se ha intentado paliar de varios modos a lo largo de los años:

- mediante el empleo de anticoagulantes, de uso clínico rutinario en la actualidad, aunque no exento de problemas.

- diversas técnicas de interposiciones arteriales y venosas.
- la creación de una fístula arteriovenosa esplénica distal (utilizada, entre otros, por el grupo de Calne, en Cambridge) (Calne y cols., 1980).
- la inclusión del bazo en el injerto (Dafoe y cols., 1988).

Estas dos últimas técnicas están prácticamente desechadas, excepto a nivel experimental (Gänger y cols., 1987a; Dafoe y cols., 1985; Dafoe y cols., 1986).

Un factor adicional de cierta importancia en el terreno experimental es la frecuencia de variaciones anatómicas vasculares, que obligan a adaptaciones individuales en la técnica quirúrgica (Van Schilfgaarde y cols., 1983).

El segundo aspecto de la técnica vascular ha concernido al drenaje venoso sistémico ó portal, al existir cierta evidencia de que el primero puede a largo plazo alterar el funcionamiento endocrino del injerto (Van Goor y cols., 1986); sin embargo, el drenaje venoso sistémico es el de empleo rutinario en clínica, con algunas excepciones anecdóticas (Mühlbacher y cols., 1990; Brons y cols., 1991).

#### I.4.2. PROBLEMAS ESPECIFICOS

##### I.4.2.1. Problemas técnicos relacionados con el drenaje de la secreción exocrina

En nuestros días sigue siendo objeto de intenso debate si la secreción exocrina debe ser mantenida ó suprimida en el injerto pancreático.

Desde los primeros estudios experimentales hasta nuestros días se han empleado una gran variedad de procedimientos en uno y otro sentido. Fundamentalmente son estos:

- Drenaje libre a cavidad peritoneal.
- Técnicas de drenaje a vísceras huecas, principalmente vejiga, uréter, intestino delgado y estómago.
- Técnicas de ligadura ductal y oclusión ductal, inmediata ó retardada, temporal ó definitiva, con diversas sustancias (neoprene, prolamina, etc).

El mantenimiento de la secreción requiere la anastomosis del sistema ductal al tracto digestivo ó urinario. Cualquier cirujano sabe que el páncreas es un órgano muy poco "agradecido" a las manipulaciones quirúrgicas; la falta de una cápsula consistente y la friabilidad y pequeño diámetro de su conducto de secreción exocrina hacen que las fístulas anastomóticas sean muy frecuentes con los distintos procedimientos empleados (Sutherland y cols., 1985).

La experiencia clínica inicial con el drenaje a intestino delgado fue bastante decepcionante (Lillehei y cols., 1970), siendo

posteriormente la introducción de las técnicas de obliteración ductal las que dieron un nuevo ímpetu al TxCP, al hacerlo más seguro aboliendo completamente la secreción exocrina (Dubernard y cols.,1978).

Sin embargo, varios estudios han demostrado que la obliteración ductal induce una reacción inflamatoria precoz resultante en una fibrosis del tejido exocrino, pero también en una desestructuración de los islotes con reducción concomitante de la función endocrina (Gooszen y cols.,1984a; Gooszen y cols.,1984b; Gooszen y cols.,1988).

Estas consideraciones plantean el dilema de preferir un proceder quirúrgico más sencillo pero con menor reserva endocrina, frente a otro más complejo pero con máxima función endocrina; los datos actualmente disponibles en el IPTR no son concluyentes en este sentido (Sutherland y cols.,1991a).

El drenaje al tracto urinario parece estar dando buenos resultados en los últimos años, y actualmente se considera la mejor opción para el diagnóstico precoz del rechazo mediante medición del descenso de amilasa en la orina; además, elimina el factor de contaminación intestinal de la otra técnica; sin embargo, algunos grupos siguen utilizando el drenaje a intestino delgado por ser el más fisiológico (Groth,1988; Daloze y cols.,1989; Groth,1991; Brons y cols.,1991), y para el grupo de Minnesota constituye la técnica de elección en casos de donante vivo-relacionado. Otros consideran que el drenaje a vejiga es probablemente importante para el injerto pancreático sólo, pero no es tan necesario para el trasplante combinado de riñón-páncreas, donde el riñón puede ser usado para monitorizar el rechazo (Corry,1991).

El drenaje a vejiga tiene, además, desventajas inherentes a la técnica, como son:

- la acidosis metabólica secundaria a la pérdida de bicarbonato.
- disuria u otros síntomas relacionados con la inflamación del urotelio (la denominada "cistitis enzimática") (Allen y cols.,1992; Smith y cols.,1991).
- hemorragias anastomóticas que requieren cistoscopia y cauterización (Corry,1991).
- desequilibrios electrolíticos (Schang y cols.,1991).

Estas desventajas han obligado a la conversión a drenaje a intestino delgado en algunos casos (Burke y cols.,1990; Boudreaux y cols.,1990; Corry,1991), ó han inclinado la balanza a favor del drenaje intestinal después de estudios experimentales exhaustivos (Nishimura y cols.,1991).

Muy recientemente el desarrollo de nuevos marcadores serológicos de rechazo, muy fiables, está también inclinando hacia el drenaje a intestino delgado a algún grupo que realizaba drenaje urinario (Perkal y cols.,1992).

Estas técnicas de drenaje a víscera hueca siguen teniendo porcentajes nada despreciables de complicaciones relacionadas con la secreción exocrina tales como fístulas, dehiscencias anastomóticas y pancreatitis del injerto, que producen una morbimortalidad considerable.

Parece, pues, lógico, que los esfuerzos vayan encaminados hacia tratar de controlar, en los primeros días postrasplante, dicha secreción exocrina, así como idear métodos ó nuevas técnicas para hacer las anastomosis más seguras. Así, estudios recientes del grupo de Estocolmo han demostrado que en el postoperatorio inmediato el jugo pancreático es muy rico en enzimas(amilasa y lipasa), y aconsejan la diversión inicial



del jugo (cateterizando el Wirsung) al exterior para proteger la anastomosis pancreatoyeyunal (Tydén y cols., 1987a; 1987b).

Diversos procedimientos técnicos y nuevas sustancias farmacológicas (algunas ya introducidas en la clínica) pueden encontrar aplicación en el trasplante de páncreas. Entre estos destacan:

- a) El empleo de hormonas inhibidoras de la secreción exocrina, fundamentalmente la somatostatina.
- b) El empleo de Adhesivos Biológicos de Fibrina en la oclusión ductal temporal y en el sellado de la anastomosis pancreatoyeyunal.

#### **1.4.2.2. La pancreatitis del injerto**

La pancreatitis del injerto, manifestada por un aumento de la amilasa y lipasa séricas, colecciones líquidas peripancreáticas, edema e hinchazón del injerto, autodigestión y necrosis del tejido circundante, puede producir una morbilidad significativa y hasta pérdida del injerto (Mittal y cols., 1989).

Esta pancreatitis puede obedecer a diversas etiologías:

- mecánica: por excesiva manipulación de la glándula durante su extracción, perfusión "ex-vivo" y/o implante.
- isquémica: por unos tiempos de isquemia caliente y/o isquemia fría excesivamente prolongados.
- por rechazo: siendo a veces la pancreatitis por rechazo difícil de diferenciar de la pancreatitis por otras causas (Toledo-Pereyra, 1988).
- por el propio tratamiento inmunosupresor (Mallory y cols., 1980).

En cualquier caso, una pancreatitis moderada del injerto parece un fenómeno constante e inevitable. En un determinado número de injertos existe un grado más avanzado de pancreatitis que puede ser origen de infecciones secundarias severas, al igual que ocurre en la inflamación aguda de la glándula "in situ". Además, la pancreatitis severa del injerto puede ser responsable de fístulas anastomóticas, siendo en este contexto muy difícil ó imposible el determinar si el fallo anastomótico ha sido primario ó secundario a la pancreatitis (Tydén y cols.,1985).

#### **I.4.2.3. Infecciones intraabdominales relacionadas**

En estrecha relación con los dos apartados anteriores, las infecciones intraabdominales constituyen siempre complicaciones serias en los pacientes trasplantados, y van asociadas a una alta mortalidad.

La infección precoz postrasplante generalmente requiere la extirpación del injerto para su resolución, sirviendo el drenaje percutáneo sólo como medida adyuvante a la cirugía (Hesse y cols.,1986; Tydén y cols.,1985).

Su incidencia es alta con todas las técnicas empleadas, aunque parece mayor con las de drenaje exocrino a intestino delgado (Hesse y cols.,1986; Tibell y cols.,1989; Brons y cols.,1991).

Varios factores parecen estar relacionados con la alta incidencia de infección intraabdominal en los pacientes con trasplante pancreático:

a) La potente inmunosupresión de las primeras semanas postrasplante que, junto con la enfermedad de base (generalmente uremia y diabetes),

comprometen el sistema inmunitario del receptor aumentando su susceptibilidad a las infecciones.

b) La anastomosis del injerto a una víscera hueca, susceptible de fistulización antes de que ocurra la cicatrización.

c) Los injertos pancreáticos producen un fluido, especialmente después de las comidas, que es segregado a la cavidad peritoneal a través de conductillos abiertos ó linfáticos seccionados, y este fluido es un buen caldo de cultivo de microorganismos (Sutherland y cols., 1979).

d) La necrosis parcial ó total del injerto por trombosis vascular, pancreatitis ó rechazo, que proporciona también un buen medio de cultivo para la infección, sobre todo con tratamiento antirechazo.

#### I.4.2.4. ¿Transplante segmentario ó transplante total?

Es bien conocido que el trasplante segmentario puede proporcionar un estado euglucémico, sin necesidad de el trasplante total de la glándula, estimándose que el 20% de la masa total de islotes sería la masa crítica adecuada para mantener la función endocrina (Toledo-Pereyra, 1988).

Sin embargo, la destrucción parcial de los islotes debido a fenómenos de rechazo ó a la fibrosis en casos de injertos pretratados por inyección ductal, puede resultar en una reducción de la masa de células  $\beta$  a un nivel crítico respecto al necesario para mantener el estado euglucémico. A esto habría que añadir la retracción por fibrosis que sufre el injerto, que en el modelo canino es de un 30% aproximadamente (Helling y cols., 1983).

Diversos estudios, fundamentalmente europeos, han comparado la función endocrina a corto-medio plazo entre trasplantes clínicos segmentarios y totales, encontrando una mayor reserva funcional en los últimos, aunque ambos proporcionan un buen control metabólico (Secchi y cols., 1990b; Secchi y cols., 1991).

En los últimos años el trasplante total se ha popularizado, quizás debido a la menor incidencia de trombosis vasculares, y actualmente se efectúan más TxCP totales que segmentarios (Toledo-Pereyra, 1988).

Sin embargo, el trasplante segmentario sigue siendo importante, por varios motivos:

1) Tiene aún plena vigencia en algunos grupos de TxCP, sobre todo en Europa. En el análisis del IPTR del año 90, de los 1.597 trasplantes realizados entre Enero 1984 y Junio 1989, 855 fueron totales y 742 segmentarios (Sutherland y cols., 1990).

2) La escasez de donantes de órganos, que lo hace importante en los casos de extracciones múltiples y en casos de donante vivo-relacionado. Sin embargo, hoy día ya se están realizando extracciones múltiples de hígado y páncreas total del mismo donante mediante cirugía de banco reconstructiva de las arterias esplénica y mesentérica superior en el injerto pancreatoduodenal (Marsh y cols., 1989; Sterioff y cols., 1989; Delmonico y cols., 1989; Schlumpf y cols., 1990b; Dunn y cols., 1991; Fernández Cruz y cols., 1992), y existe evidencia de que la obtención de ambos órganos del mismo donante no afecta el resultado del trasplante (Schlumpf y cols., 1990b; Dunn y cols., 1991; Morel y cols., 1991b).

En opinión del grupo de Minnesota, si el porcentaje de fallos técnicos actuales en el TxCP segmentario de donante vivo-relacionado pudiera disminuirse, sería una opción terapéutica tan atractiva como lo

es hoy el trasplante de riñón de donante vivo-relacionado (Sutherland y cols.,1989b). Sin embargo, últimamente han surgido inquietudes relacionadas con la función del páncreas restante en el donante (Kendall y cols.,1990).

3) Por los autotrasplantes tras cirugía pancreática resectiva por pancreatitis crónica (Rossi y cols.,1990).

#### **I.5. TRASPLANTE EXPERIMENTAL: MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE PREVENCIÓN DE LAS COMPLICACIONES NO INMUNOLÓGICAS.**

##### **I.5.1. MODELOS DE AUTOINJERTO SEGMENTARIO .**

Los modelos animales de Autoinjerto pancreático (AutoxP) son extremadamente útiles para el estudio de toda una serie de aspectos fisiológicos ó técnicos del trasplante de páncreas, sin la variable del rechazo inmunológico. La no necesidad de inmunosupresión simplifica mucho el manejo postoperatorio y permite además seguimientos muy prolongados en el tiempo.

Así, se han utilizado modelos animales de Autoinjerto pancreático para investigar el efecto de una serie de variables sobre el funcionamiento endocrino del injerto. Estas variables incluyen el manejo de la secreción exocrina, la influencia de la denervación, la importancia del drenaje venoso portal frente al sistémico, y un largo etcétera.

El modelo animal ideal debería ser el que más se acercara al humano desde el punto de vista anatómico y fisiológico, para que la experiencia

técnica y fisiopatológica extraída de estos experimentos pueda servir de ayuda en mejorar los resultados del trasplante clínico.

La inmensa mayoría de trabajos experimentales de AutoxP en animales grandes se han realizado en el perro, y algunos en el primate (Du Toit y cols., 1981; Du Toit y cols., 1983; Du Toit y cols., 1985). Sin embargo, la elección del perro como modelo animal de cirugía humana ha estado basada más en la tradición que en consideraciones fisiológicas en muchos casos (Swindle, 1984).

La primera ilustración conocida sobre el uso de animales en investigación es de Vesalio, en su obra *Fabrica*, en 1543. En el texto describe un experimento donde corta el nervio laríngeo recurrente de un cerdo sin anestesiarse, le abre la cavidad torácica y demuestra la resucitación intratraqueal utilizando una caña.

La investigación quirúrgica y el trato humano a los animales han avanzado ciertamente desde entonces, pero el ejemplo demuestra que el uso del cerdo en la investigación fisiológica aplicada a humanos no es nuevo.

A pesar de que el perro ha sido el animal de experimentación más utilizado en este tipo de trasplante, la elección del cerdo se puede fundamentar en una serie de razones:

- A) de disponibilidad.
- B) anatómicas.
- C) inmunológicas.
- D) valoración del modelo de autoinjerto.

#### **A) Razones de disponibilidad:**

La utilización del perro como animal de laboratorio está disminuyendo por factores sociales y logísticos (Swindle,1984). Una encuesta publicada en los EEUU en 1980 (Committee of Lab....,1980) evidencia que el empleo del cerdo como animal de laboratorio se había incrementado casi un 100% entre 1968 y 1978, habiendo disminuido mucho el del perro. En la era moderna de los derechos de los animales y la Declaración de Helsinki sobre "Guías principales en el cuidado y uso de animales" (Villar,1988; I.C.M.J.E.,1988), el cerdo es un animal menos sensible que el otro modelo animal grande, el perro.

#### **B) Razones anatómicas:**

Desde el punto de vista anatómico el páncreas del cerdo es mucho más parecido al humano que el del perro (Skjennald,1982). Su situación retroperitoneal, el hecho de que la cabeza rodee a la vena porta y su mayor volumen y consistencia parenquimatosa le hacen ser un animal idóneo para el modelo de aloinjerto, habiendo sido muy utilizado en los últimos años (Kyriakides y cols.,1976b; Kyriakides y cols.,1979a y 1979c; Wayand y cols.,1980; Schweizer y cols.,1984; Dafoe y cols.,1985; Koyama y cols.,1986; Gänger y cols.,1987a y 1987b; Thompson y cols.,1988; Dafoe y cols.,1989; Källen y cols.,1990; Nicholson y cols.,1991a y 1991b).

Por el contrario, en el perro el páncreas es móvil sobre un mesenterio muy largo y la cabeza pancreática no envuelve a la vena porta.

#### **C) Razones inmunológicas:**

Diversos estudios han demostrado que el cerdo posee una mayor tolerancia inmunológica a los aloinjertos

vascularizados que el perro, quizá explicable en base a las conocidas diferencias en sus sistemas linfáticos (Terblanche y cols.,1973); así, algunos estudios de aloinjertos pancreáticos evidencian una supervivencia funcional superior a las 2 semanas en algunos animales, sin tratamiento inmunosupresor (Wayand y cols.,1980; Dafoe y cols.,1985).

Además, el páncreas y la insulina porcinos son comparables al humano en términos de inmunología (Shienvold,1986) y de disponibilidad del MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) (Sachs y cols.,1976), llamado HLA en el humano.

**D) Valoración de la idoneidad del modelo de autoinjerto pancreático en el cerdo:**

La idoneidad de este modelo ha sido un tema controvertido en la literatura sobre trasplante experimental de páncreas de los últimos años.

Así, desde la introducción por Mitchel y cols. del Autoinjerto pancreático en perros en 1966, y hasta 1986, se habían publicado docenas de artículos sobre AutoxP en perros, por sólo uno en el cerdo (Kyriakides y cols.,1976a). Esto contrastaba notablemente con el número de publicaciones sobre Aloinjerto pancreático en el modelo porcino.

Además, el modelo de AutoxP en el cerdo desarrollado por Kyriakides y cols.(1976a) parecía bastante factible a la luz de sus resultados. Esto, unido a las indudables ventajas anatómicas del páncreas porcino sobre el del perro, hacía ciertamente incomprensible la nula difusión de este modelo experimental.

A este interés contribuyeron los resultados negativos publicados en 1987 por Traverso y MacFarlane en su intento de desarrollar un modelo de



AutoxP en cerdos (Traverso y cols., 1987a). Estos autores, desconociendo el trabajo previo de Kyriakides y cols. (1976a), y basados en estudios de anatomía vascular del páncreas porcino (Getty, 1975; Skjennald, 1982) que afirmaban la existencia de arterias pancreáticas provenientes de la esplénica, intentan sin resultado el desarrollo del modelo. Encuentran que en más de la mitad de sus 16 animales la(s) arteria(s) pancreática(s) que irriga cuerpo y cola proviene de la arteria hepática, variante anatómica que, sin embargo, no es mencionada por Skjennald (1982) en su revisión de la anatomía vascular del páncreas en relación a un estudio angiográfico y hemodinámico en un modelo de pancreatitis aguda en el cerdo doméstico.

Este origen vascular hepático de la arteria del injerto les obliga a la sección y reanastomosis de la arteria hepática común, procedimiento que encuentran muy tedioso y con gran predisposición a la trombosis. En los casos en que la arteria pancreática sale de la esplénica, encuentran que lo hace prácticamente del origen de dicha arteria en su salida del tronco celíaco, lo que hace la anastomosis de la arteria esplénica proximal técnicamente difícil ó imposible. Concluyen estos autores afirmando que el modelo porcino de AutoxP no es técnicamente realizable.

## **1.5.2. PREVENCIÓN DE LA PANCREATITIS DEL INJERTO Y DE LAS COMPLICACIONES SEPTICAS INTRAABDOMINALES.**

### **1.5.2.1. CONTROL DE LA SECRECIÓN EXOCRINA.**

El control de la secreción exocrina pancreática en los primeros días postrasplante puede ser un factor importante en el intento de evitar ó reducir las frecuentes pancreatitis, fístulas y dehiscencias anastomóticas, que cuando se presentan pueden llevar a la pérdida de hasta el 30% de los injertos (Liu y cols., 1985a).

Asimismo, el restablecimiento posterior de esta secreción exocrina impide la atrofia del injerto y con ello la lenta pérdida de su función endocrina.

A pesar de las técnicas de ligadura, oclusión ductal con diversas sustancias ó radioterapia del injerto, siguen ocurriendo complicaciones y fístulas a través de los linfáticos seccionados que actúan de sistema de drenaje accesorio y transporte de las enzimas pancreáticas después de la obliteración ductal (Steiner y cols., 1984).

El empleo de sustancias hormonales inhibidoras de la secreción exocrina es un concepto relativamente reciente, y que tiene la ventaja de su reversibilidad.

Estudios experimentales en los últimos años han demostrado que la somatostatina (SMT), tetradecapéptido que inhibe la secreción de hormonas como la insulina y el glucagón (Boden y cols., 1975), reduce también la secreción exocrina pancreática no estimulada, con un efecto precoz y rápidamente reversible (Reyl-Desmars y cols., 1982); dicha acción supresora, así como su efecto relajante del esfínter de Oddi, han

sugerido estudios en los que se demuestra su efecto beneficioso en el tratamiento de la pancreatitis aguda (Usadel y cols.,1980).

Por un mecanismo similar la SMT ha probado asimismo su eficacia en el manejo y tratamiento de fístulas pancreáticas e intestinales (Di Costanzo y cols.,1982; Jost y cols.,1984; Quintans y cols.,1986; Torres y cols.,1992).

Su empleo en el trasplante experimental de páncreas es reciente , en perros con autoinjertos segmentarios inyectados con prolamina, en los cuales se mantuvo una infusión constante de SMT durante 10 días (Steiner y cols.,1984).

El empleo de análogos de SMT con una duración de acción prolongada y efectos más específicos es también reciente tanto en la clínica (Whitehouse y cols.,1986; Wood y cols.,1985; Koelz y cols.,1987) como en el laboratorio experimental (Liu y cols.,1985b).

Comienza con los trabajos de unos investigadores suizos que logran sintetizar un análogo estructural al que denominan "minisomatostatina selectiva" SMS-201-995 (Bauer y cols.,1982); este análogo es también activo por vía oral y subcutánea, y su acción es prolongada, con una vida media de 113 minutos tras administración s.c.; en clínica humana se ha demostrado que una sola inyección s.c. suprime de forma significativa la secreción ácida gástrica durante 5 horas (Whitehouse y cols.,1986).

El grupo de Minnesota, pionero también en el empleo de uno de estos análogos en el trasplante experimental, encuentra que los perros tratados tenían niveles menores de amilasa, lipasa y glucosa, mayores niveles de insulina y mayores índices K(índice de tolerancia a la

sobrecarga i.v. de glucosa); asimismo, logran suprimir las fístulas anastomóticas en los perros tratados (Liu y cols., 1985b).

#### **1.5.2.2. REFUERZO DE LA ANASTOMOSIS PANCREATOEYUNAL.**

Una de las mayores complicaciones del trasplante pancreático es la fístula anastomótica entre el injerto y la víscera de drenaje de la secreción exocrina.

Durante mucho tiempo las suturas han sido el método estándar de reparación tisular y de heridas en cirugía. Sin embargo, sofisticadas técnicas de sutura y materiales de sutura altamente desarrollados no han sido siempre suficientes para prevenir complicaciones.

La isquemia tisular causada por puntos de sutura demasiado unidos, ó el desgarro que estos puntos pueden producir en órganos parenquimatosos ó tejidos inflamados, con las dehiscencias anastomóticas consiguientes, son fenómenos con los que todos los cirujanos están familiarizados.

Estos factores, junto con la investigación de sustancias hemostáticas, han conducido al desarrollo de varias sustancias adhesivas tisulares, en un intento de reparación atraumática de los tejidos (Tscheliessnigg y cols., 1981).

Estos intentos a nivel experimental comienzan con los trabajos de Helene Matras y cols. (1972), en la Clínica Universitaria de Cirugía Maxilofacial de Viena. Hacen un estudio comparativo entre anastomosis nerviosas con sutura microquirúrgica ó con un adhesivo biológico de fibrina (ABF) en 16 conejos, y encuentran excelentes resultados en las

segundas, sin ninguna reacción de rechazo en el estudio histológico y con buena mielinización y regeneración nerviosa.

Por el contrario, en las anastomosis con sutura encuentran una mayor disgregación de la estructura nerviosa y una clara proliferación de tejido conjuntivo epineural.

Estudios posteriores de estos mismos autores condujeron al perfeccionamiento del método, que utilizaba fibrinógeno altamente concentrado en combinación con el Factor XIII de la coagulación (Factor estabilizador de la fibrina) y un inhibidor de la fibrinólisis (Matras y cols., 1975a y 1975b).

Desde las primeras experiencias clínicas publicadas en 1976 (Spangler, 1976), han aparecido centenares de estudios clínicos y experimentales sobre el uso de este Adhesivo Biológico de Fibrina (ABF) (Lerner y cols., 1990).

La inmensa mayoría de los trabajos han comunicado buenos ó excelentes resultados en el sellado de suturas cardiovasculares (Wolner, 1982; Köveker, 1982; Stark y cols., 1984; Meisner y cols., 1982; Chartrand y cols., 1989), fístulas del conducto torácico (Stenzl y cols., 1983), fístulas del parénquima pulmonar (Thetter, 1981; Türk y cols., 1983) y broncopleurales (Jessen y cols., 1985; Glover y cols., 1987).

Sus aplicaciones en cirugía general incluyen el control hemostático en el trauma hepatoesplénico experimental (Kram y cols., 1984; Jakob y cols., 1984) y clínico (Kram y cols., 1988a y 1988b; Kram y cols., 1989; Hauser y cols., 1989), el sellado de anastomosis gastrointestinales y biliares experimentales (Petrelli y cols., 1982; Kram y cols., 1985), y la

oclusión de fístulas enterocutáneas postoperatorias (Kram y cols., 1988a; Eleftheriadis y cols., 1990).

También se ha demostrado su valor en las anastomosis denominadas "de alto riesgo": esofagogástricas intratorácicas (McCarthy y cols., 1987), colorectales experimentales (Oka y cols., 1982) ó colocolónicas (Kjaergaard y cols., 1987), y pancreaticoyeyunales (Tashiro y cols., 1987).

Su empleo en el trasplante experimental de páncreas ha visto la luz recientemente en una comunicación presentada por Zimmermann y cols. al 3er Congreso de la European Society for Organ Transplantation (Junio 11-13 1987. Gothenburg. Suecia), y que ha sido objeto de una posterior publicación (Zimmermann y cols., 1987). Este grupo, en un intento de evitar la moderada insuficiencia endocrina producida por la oclusión permanente con prolamina, emplea el ABF para oclusión temporal del Wirsung, y obtienen dos ventajas:

- 1) Seguridad de la anastomosis P-Y, por la interrupción temporal de la secreción exocrina.
- 2) Restablecimiento posterior del drenaje exocrino, preservando así íntegra la estructura funcional del injerto.

A ello cabría añadir la protección adicional que ofrecería su empleo directamente sobre la anastomosis P-Y, como sugieren en clínica Tashiro y cols. (1987).

#### 1.5.2.3. "INTESTINALIZACION" DEL INJERTO.

El concepto de la "intestinalización" de fragmentos pancreáticos vascularizados surge a nivel experimental en 1984 con unos trabajos conjuntos de Senninger y Moody, de las Universidades de Heidelberg y Texas, respectivamente. Estos autores pretenden encontrar un método alternativo al Autoinjerto pancreático heterotópico tras resecciones pancreáticas masivas por pancreatitis crónica (Senninger y cols., 1984; Senninger y cols., 1985).

Estos AutoxP heterotópicos pueden prevenir efectivamente la diabetes después de la pancreatectomía total, pero conllevan una elevada morbilidad derivada de la trombosis vascular y del manejo de la secreción exocrina.

Buscan, pues, un método alternativo que prevenga las fístulas de las anastomosis enteropancreáticas, drene de manera eficaz las colecciones y tejidos necróticos peripancreáticos, preservando a la vez la función endocrina del fragmento pancreático.

Realizan un estudio comparativo en perros, intestinalizando la cola pancreática y resecando el resto de la glándula. Demuestran menor morbilidad respecto a un grupo control con pancreatoyeyunostomía clásica, y buena función endocrina del segmento intestinalizado, que fue eficaz en la prevención de la diabetes, con un año de seguimiento (Senninger y cols., 1986).

En un estudio preliminar publicado en 1984, y en otro del año 1987, demuestran que la "intestinalización" evita la pancreatitis letal experimental en el perro, al proporcionar la "bolsa intestinal" un eficaz mecanismo de drenaje de todas las secreciones, exudados, linfa y

restos necróticos consecuencia de la pancreatitis y productores de shock (Senninger y cols.,1987).

Para ello desarrollan un modelo de pancreatitis aguda segmentaria inducida por bilis y causante de una pancreatitis hemorrágica invariablemente letal en el perro (Elliot y cols.,1957; Musa y cols.,1976). Encuentran que los 6 animales de los grupos control fallecen de shock en las primeras 48 horas, mientras que 8 de los 9 animales con páncreas "intestinalizado" sobreviven.

Bunzendahl, Pichlmayr y cols.(1987), de Hannover, han evaluado esta técnica en Auto- y Aloinjertos pancreáticos segmentarios en el perro, encontrando que la intestinalización del injerto puede prevenir la muerte por pancreatitis ó necrosis del injerto. Así, los perros que fallecen con necrosis pancreática tenían los injertos mal intestinalizados, mientras que los que sobreviven con necrosis pancreáticas tenían los injertos perfectamente intestinalizados. Concluyen estos autores que esta técnica parece ofrecer ventajas considerables en el trasplante de páncreas (Bunzendahl y cols.,1987).



## **II. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

## HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

La hipótesis de trabajo y el diseño experimental han querido dar respuesta a dos interrogantes:

- 1ª. ¿Disminuye la morbilidad postoperatoria precoz postrasplante la administración farmacológica de un análogo de somatostatina?
- 2ª. ¿Contribuye a esta disminución de morbilidad la ejecución de técnicas operatorias específicas como el refuerzo de la anastomosis pancreatoyeyunal y la "intestinalización" del injerto?

Si ello es así, los animales tratados deberían tener un menor número de fístulas pancreatoyeyunales, menores colecciones periinjerto y menos pancreatitis del injerto, respecto de un grupo control.

En base a esto nos hemos planteado los siguientes objetivos:

- 1) Desarrollo de un modelo de Autoinjerto segmentario en el cerdo, para el estudio de prevención de las complicaciones no inmunológicas del trasplante.
- 2) Valoración del análogo de Somatostatina, SMS 201-995, en la disminución de la secreción exocrina y pancreatitis del injerto.
- 3) Valoración de un Adhesivo Biológico de Fibrina en el refuerzo de la anastomosis pancreatoyeyunal.
- 4) Valoración de una técnica de "intestinalización" del injerto.

### **III. SUJETOS DE EXPERIMENTACION.**

#### **MATERIAL Y METODOS.**

### III.1. SUJETOS DE EXPERIMENTACION

Por razones de disponibilidad fundamentalmente, y por las otras razones ya comentadas, el cerdo (raza minipig) ha sido el animal utilizado en este trabajo experimental.

A diferencia del cerdo doméstico, que puede alcanzar un peso adulto superior a 350 Kg., el minipig tiene un tamaño más parecido al humano, no exceden normalmente los 100 Kg. y pueden ser mantenidos alrededor de los 60 Kg. con restricciones dietéticas sin efectos perjudiciales (Sachs y cols., 1976); alcanzan la madurez sexual a los 4 a 6 meses de edad, tienen un ciclo estrogénico cada 3 semanas, un período gestacional inferior a 4 meses y suelen tener camadas de 4 a 10.

La colonia de minipigs se formó en 1982 a partir de 3 parejas de 3 haplotipos diferentes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) (A, C y D), procedentes del National Institute of Health (NIH) en Bethesda (Maryland), dando lugar a una colonia estable establecida en una granja de la Comunidad de Madrid.

El peso de los animales empleados ha oscilado entre los 25 y 35 Kg., que constituye un tamaño adecuado para la técnica quirúrgica y, además, de manejo postoperatorio menos difícil que en animales más grandes.

Los animales han sido tratados según las Normas Internacionales de la Convención de Helsinki (Villar, 1988) y los principios éticos de la experimentación animal (Sánchez González, 1990; Gimeno Forner y cols., 1989), estando bajo la supervisión de un veterinario del Departamento de Medicina y Cirugía Experimental.

El proyecto ha sido desarrollado en su totalidad en el Departamento de Medicina y Cirugía Experimental del Hospital General Gregorio Marañón de Madrid.

### III.2. FASES DEL TRABAJO EXPERIMENTAL

El trabajo ha tenido un desarrollo en 3 Fases:

Primera Fase: Pancreatectomía total en un número determinado de animales (N=10)

Segunda Fase: Desarrollo del modelo de Autoinjerto segmentario (N=25)

Tercera Fase: Desarrollo del modelo de Aloinjerto segmentario en varios grupos de animales, para el estudio de los objetivos marcados (N=45/45).

La realización de los diferentes grupos del modelo de Aloinjerto se ha pretendido alternar en el tiempo, con objeto de que el período de aprendizaje técnico influyera mínimamente en los resultados (Daloze y cols., 1989).

La Primera Fase nos ha parecido necesaria por varios motivos:

1º. Nuestra falta de experiencia previa en cirugía experimental con animales grandes (vías i.v., anestesia, manejo del catéter central en el postoperatorio, etc.)

2º. La necesidad de familiarizarnos con la anatomía quirúrgica pancreática del cerdo, controvertida por lo demás en cuanto a la posibilidad de desarrollo de un modelo de Autoinjerto.

3º. La inducción del estado diabético en los dos modelos (Auto- y Aloinjerto) la pretendíamos hacer mediante pancreatectomía total.

4º. Utilización como grupo control para valoración de una serie de parámetros (determinaciones bioquímicas y hormonales, supervivencia) tras pancreatectomía total.

### III.3. METODOLOGIA QUIRURGICA GENERAL

Independientemente de la Fase y grupo de animales se ha seguido la siguiente metodología general:

#### 1. Período Preoperatorio y Anestesia

-Ayuno total desde 12 horas antes de la intervención, y limpieza de los animales.

-Medicación preanestésica mediante inyección i.m. en el cuello de Ketamina HCl ("Ketolar"; PARKE DAVIS S.A.), 5 mg/Kg, y Xylazina ("Rompun", BAYER ), 2mg/Kg.

-Inducción anestésica con Pentobarbital sódico ("Pentotal"; ABBOTT) (10-15mg/Kg) a través de una vena del dorso de la oreja; intubación endotraqueal con conexión a un ventilador mecánico tipo Boyle ó Howells, a 12-15 ciclos/min., con presiones desde 12 a 20 cm H<sub>2</sub>O; mantenimiento anestésico con mezcla de O<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>O al 40/60%, con administración intermitente de Pentobarbital sódico, Fentanilo ("Fentanest"; SINTEX

LATINO S.A.) y Pancuronio ("Pavulón"; ORGANON S.A.) i.v. según requerimientos.

-Monitorización ECG y reposición de volemia con soluciones hidroelectrolíticas y glucosadas, con control de la PVC.

Determinaciones gasométricas arteriales en algunos animales para ajuste de parámetros ventilatorios y mezcla de gases.

-Profilaxis antibiótica con Cefoxitina sódica ("Mefoxitín", Lab. MSD), 1gr i.v..

-Administración i.v. de las primeras dosis del tratamiento inmunosupresor triple en el modelo de Aloinjerto.

-Administración s.c. de la primera dosis de SMS-201-995 (acetato de octreótido, "Sandostatín", Lab. Sandoz) en los grupos correspondientes del modelo de Aloinjerto.

## **2. Período Intraoperatorio**

-Con técnica quirúrgica estéril, y previo a la laparotomía, se canula una vena yugular externa con introducción de un catéter de PVC tipo Secalon Universal. La canulación de la yugular externa se hace por disección quirúrgica mediante incisión cervical longitudinal lateral y paralela a la tráquea; el punto de referencia es el músculo esternocleidomastoideo, medial al cual se encuentra la vena yugular externa (Woodle y cols., 1985). Al finalizar la intervención se tuneliza el catéter hacia la cara posterior del cuello del animal, manteniéndolo en el postoperatorio para administración de sueros y medicación, y extracción de sangre.

-Extracción de sangre para determinaciones bioquímicas y hormonales basales.

-Realización de la técnica quirúrgica correspondiente. Todas las técnicas quirúrgicas han sido realizadas por el mismo cirujano, a fin de eliminar la variable cirujano-dependiente en la interpretación de los resultados finales.

-Debido a la duración del tiempo quirúrgico, en bastantes animales la distensión vesical obligó a la introducción directa intravesical de una sonda de Foley conectada a bolsa, ante la imposibilidad de sondaje transuretral. Al final de la intervención se extraía la sonda y la vejiga era cuidadosamente suturada.

### **3. Periodo Postoperatorio**

-Los animales han sido mantenidos en celdillas individuales, administrándoles agua "ad-libitum" a partir del primer día, y comida a partir del segundo día. En todos se ha intentado mantener fluidoterapia i.v. durante las primeras 24 horas (Fig. 1).

-Extracciones diarias de sangre, en ayunas, para determinaciones analíticas:

a) perfil bioquímico completo diario, con determinaciones obligadas de glucemia, amilasa, calcio, iones, urea, creatinina y hematocrito; determinación opcional de lipasa.

b) determinaciones de insulinemia al 1º, 4º y 9º días postop.

c) determinaciones de nivel de Ciclosporina A en algunos animales del modelo de aloinjerto, al 4º y 9º días postop.



-Administración diaria de 1gr de Cefoxitina sódica i.v. durante 5 días.

-Administración de heparina sódica i.v., 2.500 u/12h, durante 5 días.

-Administración de otra medicación (inmunosupresores, SMS-201-995) por vía i.v. ó s.c. en los grupos correspondientes.

La SMS 201-995 se administró por vía s.c. cada 12 horas y durante 5 días; la primera dosis se administraba alrededor de las 9.00 h. (después de la extracción de sangre) y la segunda alrededor de las 21.00 horas.

-En aproximadamente el 50% de animales con aloinjerto funcionante se ha podido practicar un test de sobrecarga i.v. de glucosa (IVGTT) al 7º día. Este IVGTT se ha realizado administrando glucosa al 50% ("Glucosmón R-50"), 0.5gr/Kg de peso, con extracciones basal, a los 3, 10, 20, 30, 45, 60 y 90 minutos. El valor "K" (índice de reserva funcional del injerto, y que refleja el % de bajada de la glucemia por minuto) se ha obtenido de todas las muestras hasta los 90 min.

#### Estudio estadístico. Metodología de la determinación del valor "K"

Se han realizado estudios de comparación de proporciones, chi-cuadrado y "t" de Student con la ayuda del Programa comercial SIGMA, BASES DE DATOS BIOESTADISTICA, HARDWARE S.A., aceptándose un grado de significación estadística de  $p < 0.05$ . Los datos se expresan en medias, desviaciones estándar y rangos.

El cálculo del valor "K" se ha realizado mediante la transformación logística de los datos (tiempo en minutos y glucemias), según un modelo

Logit-Log para la transformación de curvas no lineales a curvas lineales (Rodbard y cols., 1970; Larrad, 1980).

$$X' = \log_e X$$

X : tiempo en minutos

$$Y' = \text{Logit } Y = \log_e (Y/1-Y)$$

Y : glucemias

La técnica de transformación de los valores de X e Y mediante el cálculo se ha realizado en calculadora Texas SR-56 programable, calculándose el valor del coeficiente de correlación lineal "r" de Pearson (índice del grado con que una distribución conjunta de dos variables X e Y se adapta a una línea recta) y el valor de la recta de regresión:

$$y = b + mx$$

siendo b y m dos cantidades constantes que caracterizan la posición de la recta, donde m es la pendiente.

El valor "K" corresponde al antilog. del valor de la pendiente de la recta de regresión, obtenido mediante el programa.

La Fig. I ilustra este cálculo tomando como ejemplo el IVGTT de uno de los animales transplantados:

Tiempo (min.).....	0'	3'	10'	20'	30'	45'	60'	90'
Glucemia (mg/100)..	83	302	217	190	183	165	118	92

### Metodología de las Determinaciones bioquímicas y Hormonales

Las muestras de sangre para insulina eran centrifugadas inmediatamente después de su extracción, y congeladas a -20 °C, hasta su procesamiento por RIA. Los kits utilizados contenían antisuero con reacción cruzada al 100% con insulina porcina.

La determinación de niveles séricos de ciclosporina A se ha realizado por el método TDx (inmunoensayo de polarización fluorescente), utilizando el kit de Lab. Abbott; este método utiliza Ac. policlonales anticiclosporina A que reaccionan con la droga y algunos de sus metabolitos; las concentraciones medidas son, por tanto, suma de ambos.

Los métodos seguidos para la determinación de los diferentes parámetros bioquímicos han sido los siguientes:

Glucosa.....	hexoquinasa
Urea.....	cinético U.V.
Creatinina.....	Jaffe colorimétrico
Urico.....	enzimático (uricasa)
Colesterol.....	Chod-pap (Trinder)
Triglicéridos.....	enzimático
Bilirrubina T.....	DPD Punto final
GOT.....	aspartato-aminotransferasa U.V.
GPT.....	alanina-aminotransferasa U.V.
Fosfatasa alcalina.....	colorimétrico
LDH.....	lactato-dehidrogenasa U.V.
CK.....	creatín-cinasa U.V.
Amilasa.....	colorimétrico
Proteínas T.....	Biuret- punto final

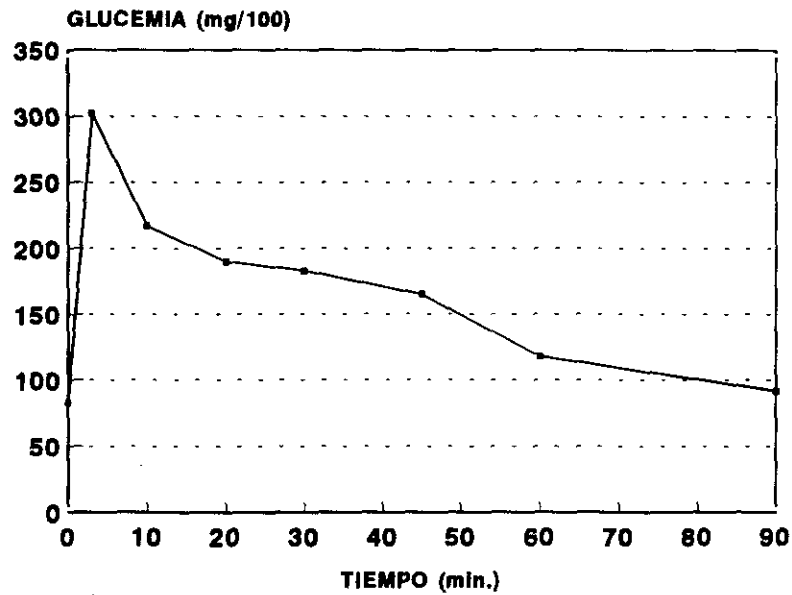
En las determinaciones de amilasemia se hicieron diluciones al 1/10 sobre el suero basal, debido a la obtención de valores basales muy superiores a los normales en el humano.

Todas las determinaciones han sido realizadas en el Departamento de Bioquímica, Hospital G. Gregorio Marañón de Madrid.

# CALCULO DEL VALOR "K"

(INDICE DE RESERVA FUNCIONAL DEL INJERTO)

## TEST DE SOBRECARGA I.V. DE GLUCOSA



## TEST DE SOBRECARGA I.V. DE GLUCOSA CALCULO DEL VALOR "K"

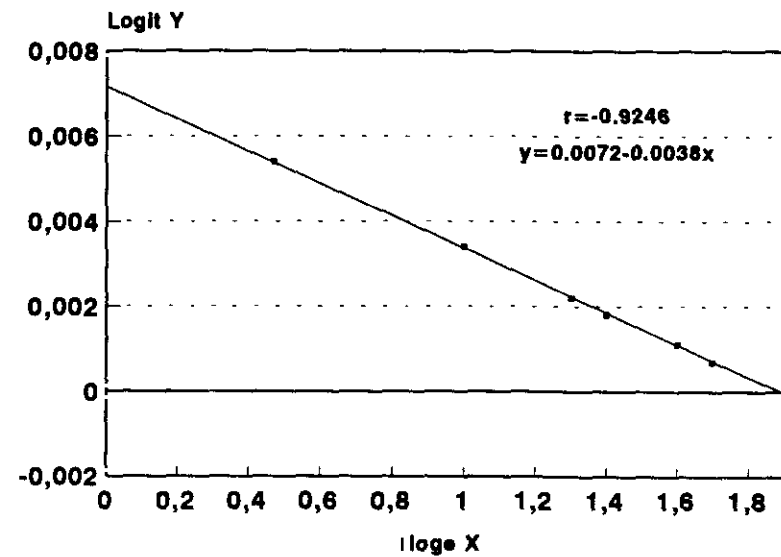


FIG. I

#### **III.4. METODOLOGIA QUIRURGICA PARTICULAR**

##### **III.4.1. PRIMERA FASE: PANCREATECTOMIA TOTAL (N=10)**

El páncreas porcino es muy similar al humano, excepto en 4 detalles importantes:

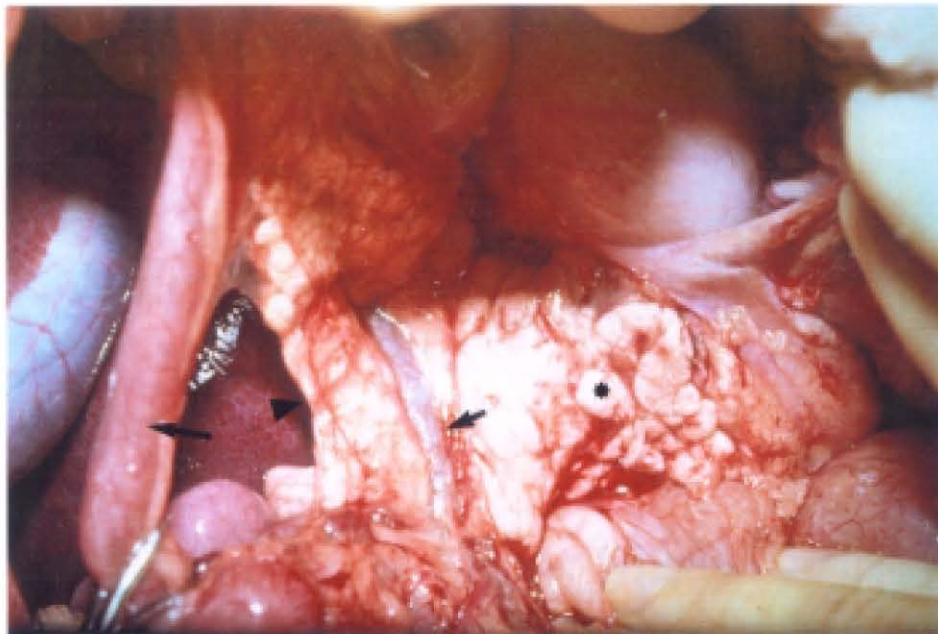
- el colédoco distal desemboca totalmente independiente del conducto pancreático y del páncreas cefálico, lo que simplifica mucho la técnica de la pancreatectomía.
- la vascularización del cuerpo-cola proviene de la arteria hepática, en lugar de la esplénica, en una mayoría de animales.
- existe un "anillo" de parénquima que rodea completamente por detrás a la vena mesentérica superior(en el mismo límite de su unión con la esplénica) y por donde transcurre un pequeño conducto pancreático accesorio(que hay que ligar en el injerto segmentario para evitar colecciones intraperitoneales).
- a diferencia del segmento corporocaudal (completamente retroperitoneal y muy parecido al humano), la porción cefálica es en gran parte intraperitoneal y muy adherida a una C duodenal muy móvil (Fig.2).

Debido a esta clara delimitación entre los segmentos corporocaudal y cefálico hemos hecho la pancreatectomía total en 2 tiempos sucesivos:

- 1º) extirpación del cuerpo-cola (que va a constituir el segmento a transplantar en las siguientes fases)
- 2º) extirpación de la porción cefálica.

FIG. 1 - ESTABULACION DE LOS ANIMALES EN EL PERIODO POST-OPERATORIO

FIG. 2 - PANCREAS PORCINO. SE OBSERVA LA VENA MESENTERICO-PORTA (→) DIVIDIENDO LA PORCION CEFALICA (▶), ADHERIDA A UNA C DUO - DENAL MOVIL (←→). SEGMENTO CORPORO CAUDAL PANCREATICO ( \* )



## **1º) Extirpación del cuerpo-cola**

Se comienza el despegamiento retroperitoneal por la zona de la cola, donde los tejidos son laxos y la disección fácil; además, el gran bazo y su pedículo vascular son totalmente móviles. Puesto que el receso caudal del epiplon mayor es corto y no recubre al intestino, el cuerpo-cola pancreáticos son expuestos sin necesidad de dividir el ligamento gastrocólico (como es necesario en el hombre).

El despegamiento retroperitoneal prosigue hacia la línea media, donde se libera con facilidad la vena esplénica en su unión con la mesentérica superior; en este momento se aísla la porción de parénquima retromesentérico y se secciona entre ligaduras (muy rara vez lleva un pequeño pedículo vascular). Se separa a continuación la vena porta del brazo de parénquima que pasa por delante (y que es por donde va el conducto pancreático principal) y se secciona este parénquima con electrocauterio (Fig.3). Nos aparece entonces la arteria hepática, envuelta en una gruesa vaina de tejido neural y linfático (Fig.4).

Levantando a continuación el extremo corporal seccionado del brazo de parénquima preportal, se disecciona en dirección a la bifurcación del tronco celiaco; seguidamente se separa el borde superior del cuerpo-cola de los vasos esplénicos, debiendo seccionar 3 ó 4 venas pancreáticas y no siendo necesaria la esplenectomía.

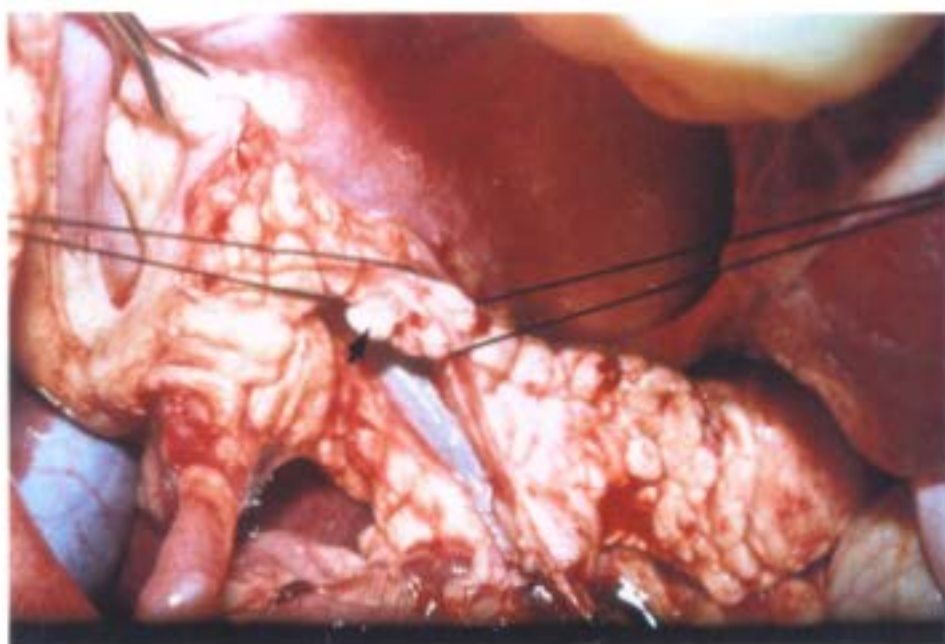
## **2º) Extirpación de la porción cefálica**

Es fundamental respetar las arcadas pancreatoduodenales superior e inferior (con una disposición muy similar a la humana) para evitar la necrosis duodenal (Fig.5).



FIG. 3 - DELIMITACION DEL CUELLO GLANDULAR PREPORTAL (➡),  
POR DONDE TRANSCURRE EL CONDUCTO PANCREATICO PRIN-  
CIPAL

FIG. 4 - EL CUELLO GLANDULAR HA SIDO SECCIONADO, APARECIEN-  
DO LA ARTERIA HEPATICA COMUN (➡), QUE YA HA DA  
DO LA RAMA PANCREATICA DEL CUERPO-COLA



Aquí la disección es más tediosa, especialmente a nivel del proceso uncinado, algo mayor y más largo que en el hombre, y en la separación de la porta, donde también hay que ligar y/o coagular 2 ó 3 pequeñas venas. La separación de la cava no supone ningún problema y viene facilitada por una 2ª y 3ª porción duodenales muy móviles y no adheridas al retroperitoneo (Fig.6).

Después de los primeros casos, la pancreatometomía total es perfectamente realizable en un tiempo entre 45'-60', y con mínima ó nula pérdida hemática.

#### III.4.2. SEGUNDA FASE: MODELO DE AUTOINJERTO SEGMENTARIO (N=25)

##### Técnica de preparación del Autoinjerto segmentario

La técnica de liberación del cuerpo-cola es superponible a la ya descrita, excepto en 2 detalles importantes:

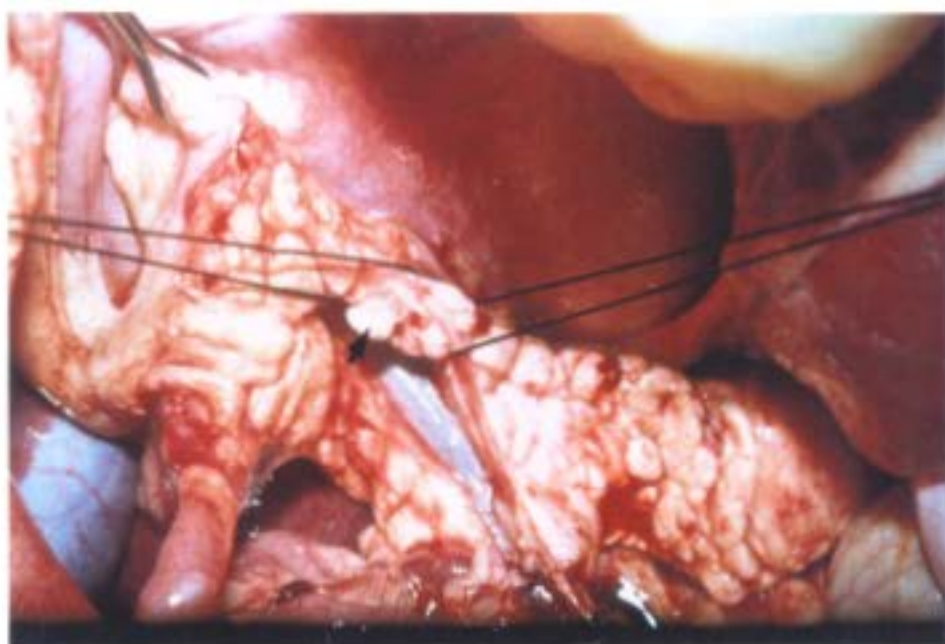
1) se procedía a una disección mucho más meticulosa del tronco celíaco hasta su origen, y de sus ramas, especialmente la arteria hepática, para evitar lesionar la(s) arteria(s) pancreática(s) y determinar con exactitud su número y origen.

2) la esplenectomía era obligada, por la canulación de la arteria esplénica para la perfusión "in-vivo" del injerto, y por el posible origen arterial pancreático desde la arteria esplénica y el drenaje venoso del autoinjerto a través de la vena esplénica; todo esto obligaba a la esplenectomía, que se realizaba después de la perfusión "in-vivo".

Asímismo era obligada la sección de los vasos gástricos izquierdos y arteria diverticular, ramas de los esplénicos, que no tiene consecuencias adversas sobre la vascularización gástrica.

FIG. 5 - SE OBSERVA LA ARCADA PANCREATODUODENAL INFERIOR ( → )  
Y PARTE DE LA PORCION CEFALICA DE LA GLANDULA ( ● )

FIG. 6 - SE HA EXTIRPADO LA PORCION CEFALICA, OBSERVANDO LA AM  
PLIA "VENTANA", POR DENTRO DE LA C DUODENAL MOVIL.



Una vez aislado el segmento autotransplantable sobre su pedículo vascular y, previo a su exéresis, se procedía a la pancreatectomía cefálica para la inducción del estado diabético.

Con objeto de reducir al mínimo el tiempo de isquemia fría (tiempo transcurrido entre el enfriamiento intraarterial y la revascularización del injerto), se procedía en este momento a la disección de los vasos ilíacos comunes izquierdos ó de la aorta y vena cava infrarenales; en este último caso se ponía especial cuidado en evitar la lesión de los colectores linfáticos que transcurren entre los dos grandes vasos, para evitar una linforrea molesta en el momento de las anastomosis vasculares.

La técnica quirúrgica posterior, así como la perfusión del injerto "in-vivo", tuvo que variar en función de la anatomía vascular arterial encontrada, que fue de 3 tipos diferentes (Fig.II):

**Grupo I:** vascularización única desde la arteria hepática común(AHC) en 17 animales(68%); en 2 casos había dos arterias en lugar de una, y eran de menor calibre. La arteria pancreática(AP) salía de la AHC a una distancia de entre 2 y 20mm desde su origen en el tronco celíaco (variante anatómica no descrita en el perro) (FLORACK et al.,1983).

**Grupo II:** vascularización única desde la arteria esplénica(AE) en 6 casos(24%). La AP salía de la AE a una distancia de entre 2 y 20mm desde su origen en el tronco celíaco.

**Grupo III:** vascularización doble desde la AHC y AE, en 2 casos(8%).

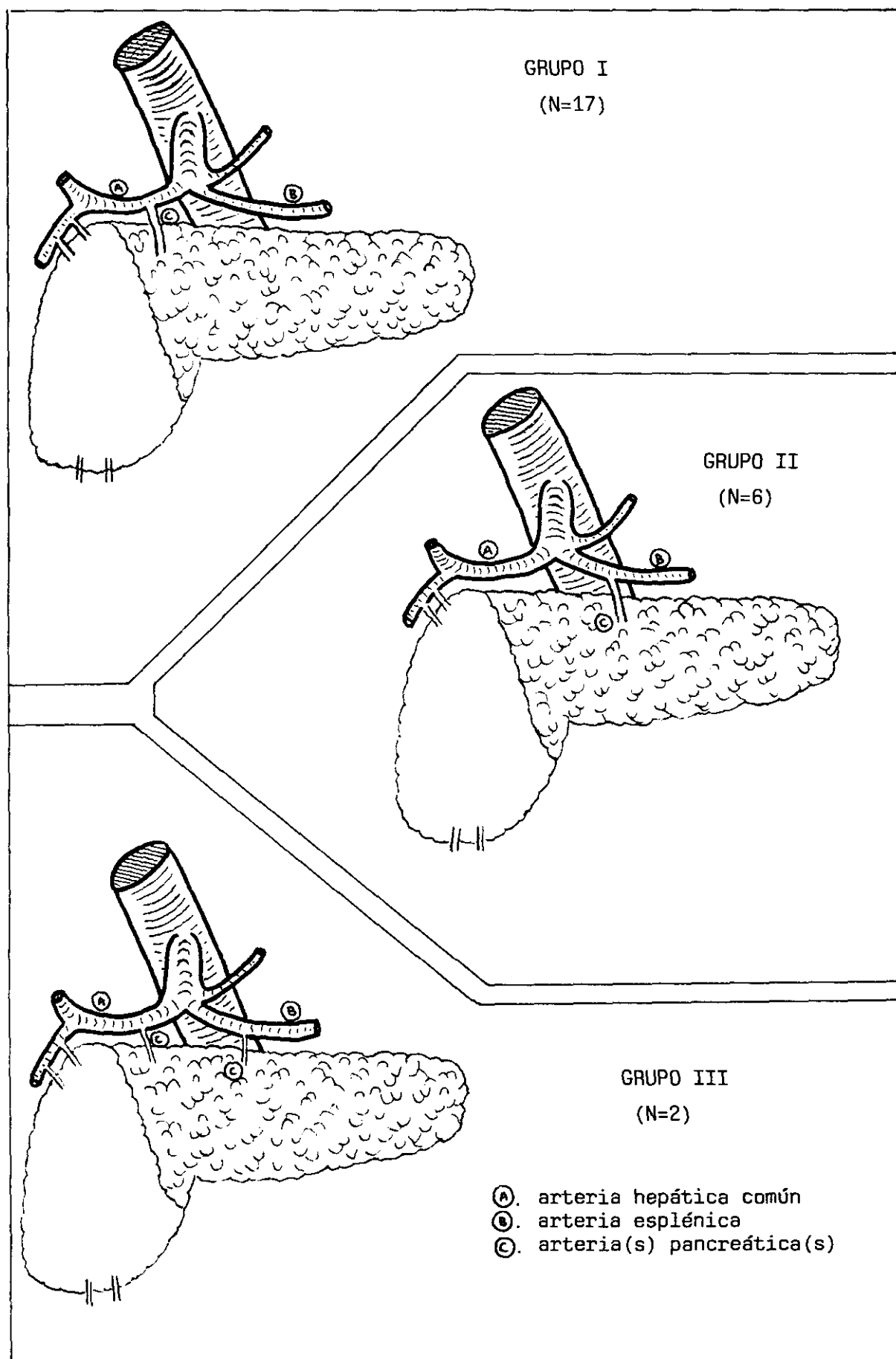


FIG. II

### Perfusión del injerto "in-vivo"

Previo heparinización sistémica del animal (2mg/Kg de peso) se canulaba la arteria esplénica lo más cerca posible del hilio esplénico, con un Abbocath 18G; se procedía al clampaje de la AHC distal (en los grupos I y III), del tronco celiaco en su origen (grupos I y III) y del hilio esplénico distal a la cánula; el clampaje de la AHC distal se hacía con lazos vasculares para traumatizar al mínimo esta arteria. El clampaje venoso se hacía en la unión de la vena esplénica con la porta, tratando de tener un parche suficiente de vena esplénica para la anastomosis pero sin estenotar la porta, que se suturaba con sutura continua vascular de 6.0.

La perfusión se realizaba con unos 200cc de solución de Collins fría con 500 u. de heparina, y a unos 30cm de presión (altura) de agua, hasta la salida del efluente claro por la vena esplénica.

En el grupo II no fue necesario el clampaje del tronco celiaco ni de la AHC distal, a excepción de un caso en que la arteria pancreática salía a unos 2mm del origen de la arteria esplénica en el tronco celiaco.

### Técnicas quirúrgicas vasculares

Se debieron emplear diferentes técnicas en función de la necesidad ó no de seccionar la arteria hepática común (AHC) con extirpación de un segmento de la misma (que daba origen a la arteria pancreática del Autoinjerto).



En el Grupo I se emplearon 4 técnicas diferentes en el restablecimiento del flujo arterial hepático (Fig.III):

a) sección de la AHC y reanastomosis término-terminal entre AHC-AHC ó AHC y Tronco celiaco, según la técnica de Kyriakides y cols.(1976), en 9 animales.

b) sección de la AHC e interposición de un segmento de arteria esplénica (de calibre muy similar) en la AHC, para evitar tensión en la anastomosis t-t, en 3 casos.

c) sección de la AHC y reconstrucción mediante un by-pass esplenohepático, según técnica de Zimmermann y cols.(1987), en 3 casos.

d) en 2 casos la arteria pancreática fue de calibre suficiente para permitir su sección a su salida de la AHC, sin necesidad de interrumpir el flujo arterial hepático; en estos 2 únicos casos la anastomosis arterial del autoinjerto se hizo con instrumental microquirúrgico y sutura vascular de 7.0; en todos los demás casos se utilizó sutura vascular de 6.0, a puntos sueltos, con empleo frecuente de dilatadores arteriales y vasodilatadores tópicos (papaverina).

En los 15 casos en que hubo que interrumpir el flujo arterial hepático se hizo protección de éste órgano mediante hipotermia directa con solución de Ringer fría y corticoides i.v. (Hasselgren y cols.,1987); 15 minutos antes del clampaje se administraba metilprednisolona ("Urbasón"; HOECHST), 30mg/Kg de peso, en solución i.v. muy lenta para evitar arritmias (Hardaway y cols.,1987).

En uno de los 2 animales del Grupo III la arteria pancreática rama de la esplénica era dominante, y se ligó la arteria pancreática rama de

la hepática, sin interrumpir, pues, el flujo hepático y realizando el autoinjerto.

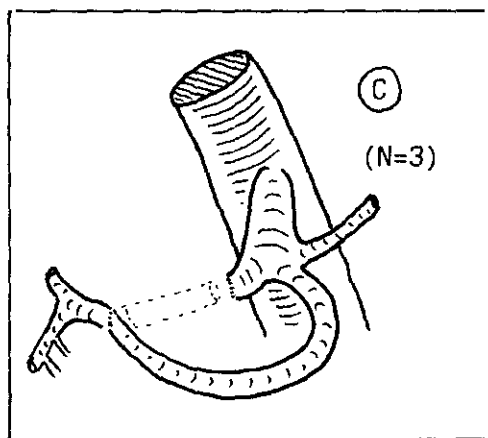
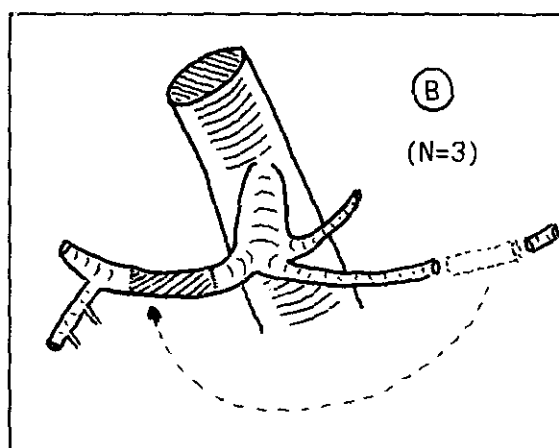
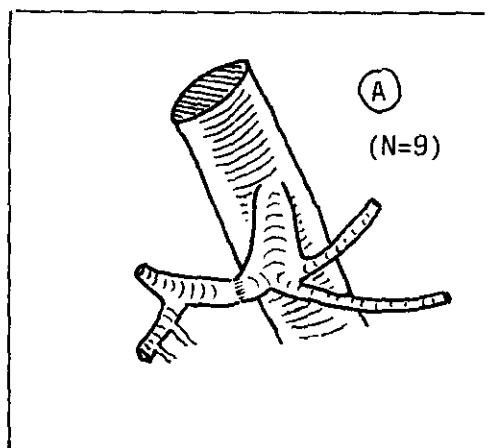
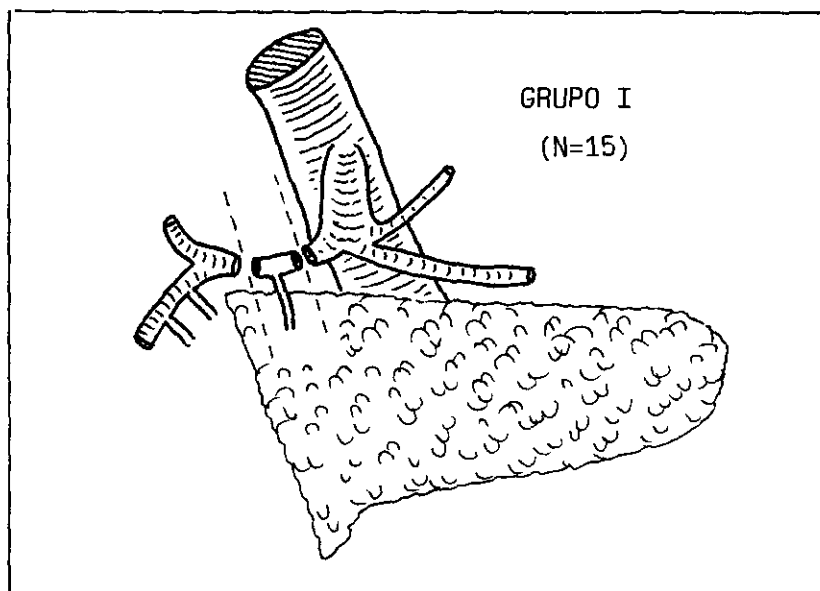
En el Grupo II tampoco fué necesaria la sección de la AHC, utilizando, pues, una técnica en todo similar a la del autoinjerto en el perro.

Los autoinjertos se implantaron en los vasos ilíacos izquierdos ó aorta y vena cava infrarenales mediante anastomosis término-laterales, con sutura continua de 6.0 la venosa, y continua ó a puntos sueltos de 7.0 la arterial. El tiempo de isquemia fría osciló entre 40 y 60 minutos.

Una vez vascularizado el autoinjerto segmentario se procedía a su fijación al retroperitoneo, poniendo especial cuidado en evitar torsiones del pedículo vascular.

En los animales del grupo I se procedió primero al autoinjerto y, una vez vascularizado éste, se procedía a la revascularización hepática, oscilando el tiempo de isquemia hepática entre 70 y 160 minutos.

Debido a que nuestro primer objetivo era simplemente la comprobación de la viabilidad del modelo de autoinjerto pancreático en el cerdo, el conducto pancreático se dejó a drenaje libre intraperitoneal.



- A. anastomosis t-t de la arteria hepática común
- B. interposición de un segmento de arteria esplénica
- C. by-pass espleno-hepático

(en los otros 2 casos no fue necesaria la sección de la AHC)

FIG. III. (MODELO DE AUTOINJERTO). TECNICAS DE REVASCULARIZACION HEPATICA.

### III.4.3. TERCERA FASE : MODELO DE ALOINJERTO SEGMENTARIO

La metodología comprendió dos periodos sucesivos en el tiempo:

Ensayo 1: Montaje del modelo de Aloinjerto (N=12/12)

Ensayo 2: Estudio de diversos métodos de prevención de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina (N=33/33).

#### III.4.3.1. Ensayo 1: Montaje del modelo de Aloinjerto

Se emplearon 24 animales (12 aloinjertos) en este período, que sirvió de período de aprendizaje técnico y logístico, preparatorio del Ensayo 2.

La finalidad era conseguir la viabilidad vascular del Aloxp, por lo que la secreción exocrina se dejó también a drenaje libre intraperitoneal.

Se empleó anticoagulación sistemática i.v. en el postoperatorio, según la pauta profiláctica comentada en la metodología quirúrgica general (2.500 U/12h).

Se hicieron 2 grupos sucesivos:

Grupo A: Aloinjerto segmentario pancreático (N=8)

Grupo B: Aloinjerto segmentario pancreatoesplénico (N=4)

Como tratamiento inmunosupresor se empleó un régimen doble, con azatioprina y prednisolona (por no disponer de ciclosporina-A en este período).

#### \* Técnica quirúrgica:

Se emplearon dos equipos simultáneos de cirujanos, uno en el animal donante y otro en el receptor.

##### a) animal donante:

La extracción se hacía siempre del bloque esplenopancreático (segmento corporocaudal). La técnica de extracción sigue, en general, los pasos ya comentados en la preparación del modelo de autoinjerto, pero con sacrificio del animal. Esto permitía la extracción de un segmento de vena porta junto a la esplénica, y de un segmento amplio de aorta con el tronco celíaco y sus ramas, teniendo cuidado de seccionar la arteria hepática común bastante distalmente para no comprometer la vascularización del injerto (Fig.7). Esta disección debe ser lo más atraumática posible, con objeto de evitar una pancreatitis traumática en el receptor después de la revascularización.

El animal era heparinizado (2mg/Kg de peso) antes del clampaje aórtico, extrayendo el bloque esplenopancreático y siendo sacrificado a continuación. El momento del clampaje aórtico en el donante se coordinaba con el equipo quirúrgico del animal receptor, con objeto de disminuir al máximo el tiempo de isquemia normotérmica (tiempo transcurrido entre el clampaje aórtico ó paro cardíaco y el comienzo de la perfusión fría del injerto) (entre 5 y 10 minutos) y el tiempo de isquemia fría (entre 70 y 120 minutos).

Después de la extracción del injerto, el animal donante era sacrificado con una sobredosis de pentotal sódico.

La perfusión "ex-vivo" se hacía con solución de Collins fría con 500u de heparina sódica al 1%, manteniendo el injerto sumergido en

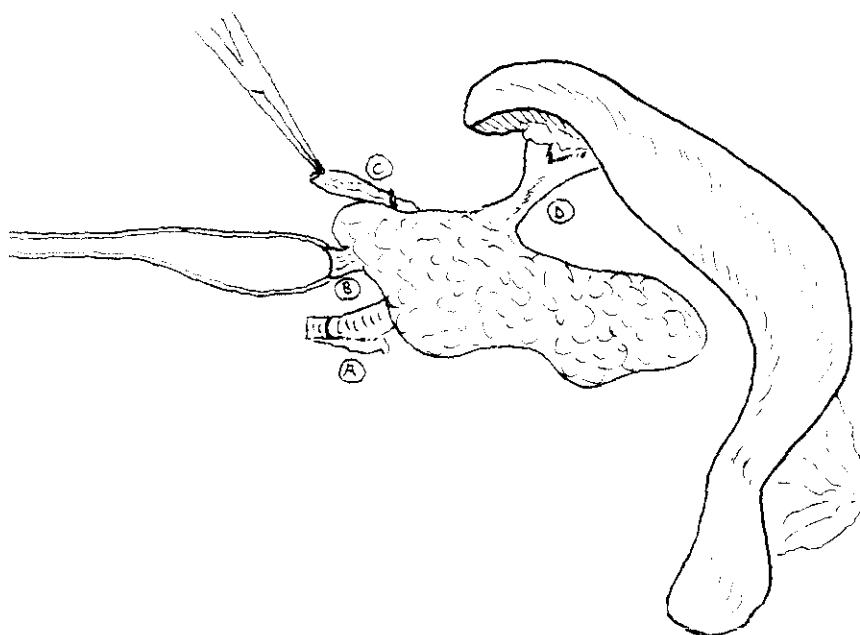
solución de Ringer fría. Se realizaba mediante canulación aórtica y a unos 30cm. de presión (altura) de agua, hasta la salida del efluente claro por la vena esplénica-porta. Se permitía la perfusión esplénica sólo en los animales del grupo B (Aloinjerto pancreatoesplénico); en los del grupo A se ligaba el pedículo esplénico sin seccionarlo, con objeto de evitar al máximo la manipulación directa de la glándula pancreática, y una vez vascularizado el injerto se extirpaba el bazo.

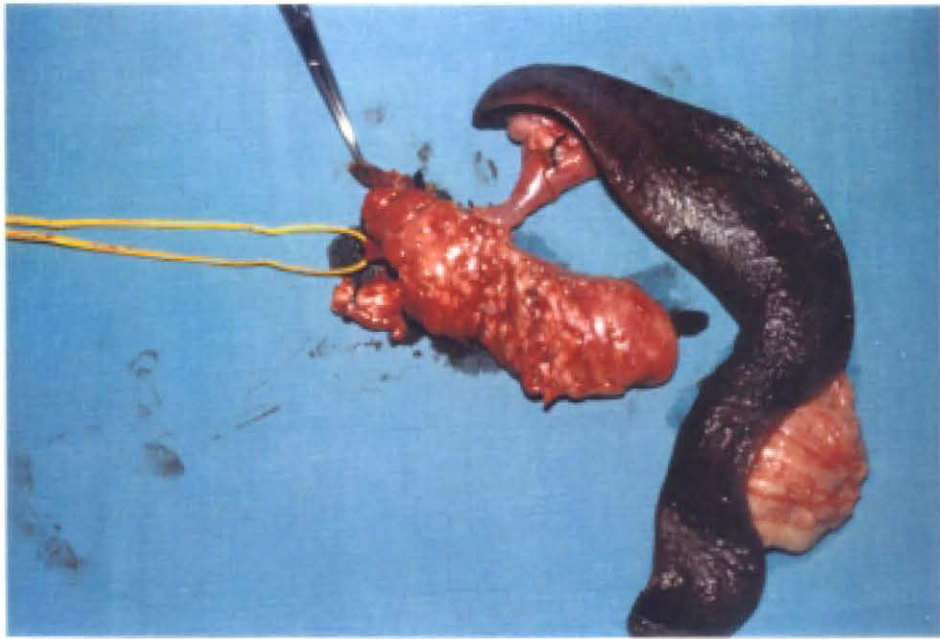
**b) animal receptor:**

Se procedía a la pancreatectomía total para inducción del estado diabético, con preservación esplénica(en algunos animales hubo que hacer esplenectomía "de necesidad"). A continuación se disecaban los vasos receptores(aorta y vena cava infrarenales).

Previo heparinización sistémica(2mg/Kg de peso) se procedía al clampaje aórtico y anastomosis arterial del injerto (Fig.8), término-lateral(T-L), mediante un pequeño parche de Carrel en el tronco celíaco, con sutura vascular continua de 5.0 y agujas de 10 mm.. Antes del desclampaje aórtico se clampaba el tronco celíaco para evitar la perfusión del injerto y para comprobación de la anastomosis arterial. A continuación se procedía a la anastomosis venosa T-L entre vena esplénica y vena cava, con sutura vascular continua de 6.0. Una vez perfundido el injerto se procedía a su fijación cuidadosa al retroperitoneo, para evitar torsiones.

FIG. 7 - MODELO DE ALOINJERTO. BLOQUE ESPLENO-PANCREATICO DE ANI  
MAL DONANTE, CON UN SEGMENTO AMPLIO DE AORTA (A), ARTE-  
RIA HEPATICA COMUN (C), Y VENA PORTA (B). (D): PEDICULO  
ESPLENICO







#### III.4.3.2. Ensayo 2: Estudio de diversos métodos de prevención de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina

Como se ha comentado en la Hipótesis de Trabajo y Objetivos, hemos pretendido valorar la eficacia de una sustancia farmacológica (un análogo de la somatostatina, SMS-201-995), y de dos técnicas quirúrgicas ("sellado" de la anastomosis pancreatoyeyunal con un Adhesivo Biológico de Fibrina, "Tissucol", e "intestinalización" completa del injerto), en la prevención de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina.

Para ello se han empleado 66 animales en 33 aloinjertos, dividiéndolos en 4 grupos (N=33):

- Grupo I (control): Pancreatoyeyunostomía (P-Y) clásica (N=7)
- Grupo II : P-Y clásica + SMS-201-995 (N=10)
- Grupo III : P-Y clásica + SMS-201-995 + ABF perianastomótico (N=8)
- Grupo IV : "Intestinalización" del injerto (N=8)

En estos 33 aloinjertos del Ensayo 2 no se realizó perfusión "ex-vivo" del injerto debido a la frecuente observación, durante la fase de montaje del modelo (Ensayo 1), de cambios macroscópicos con gran edema e hinchazón del órgano durante la perfusión, que se consideraron perjudiciales para la posterior revascularización.

Se siguió en todos los aloinjertos la técnica descrita en el Ensayo 1, Grupo A, es decir, aloinjerto pancreático segmentario sólo, sin bazo, añadiendo además una pancreatoyeyunostomía clásica en Y de Roux.

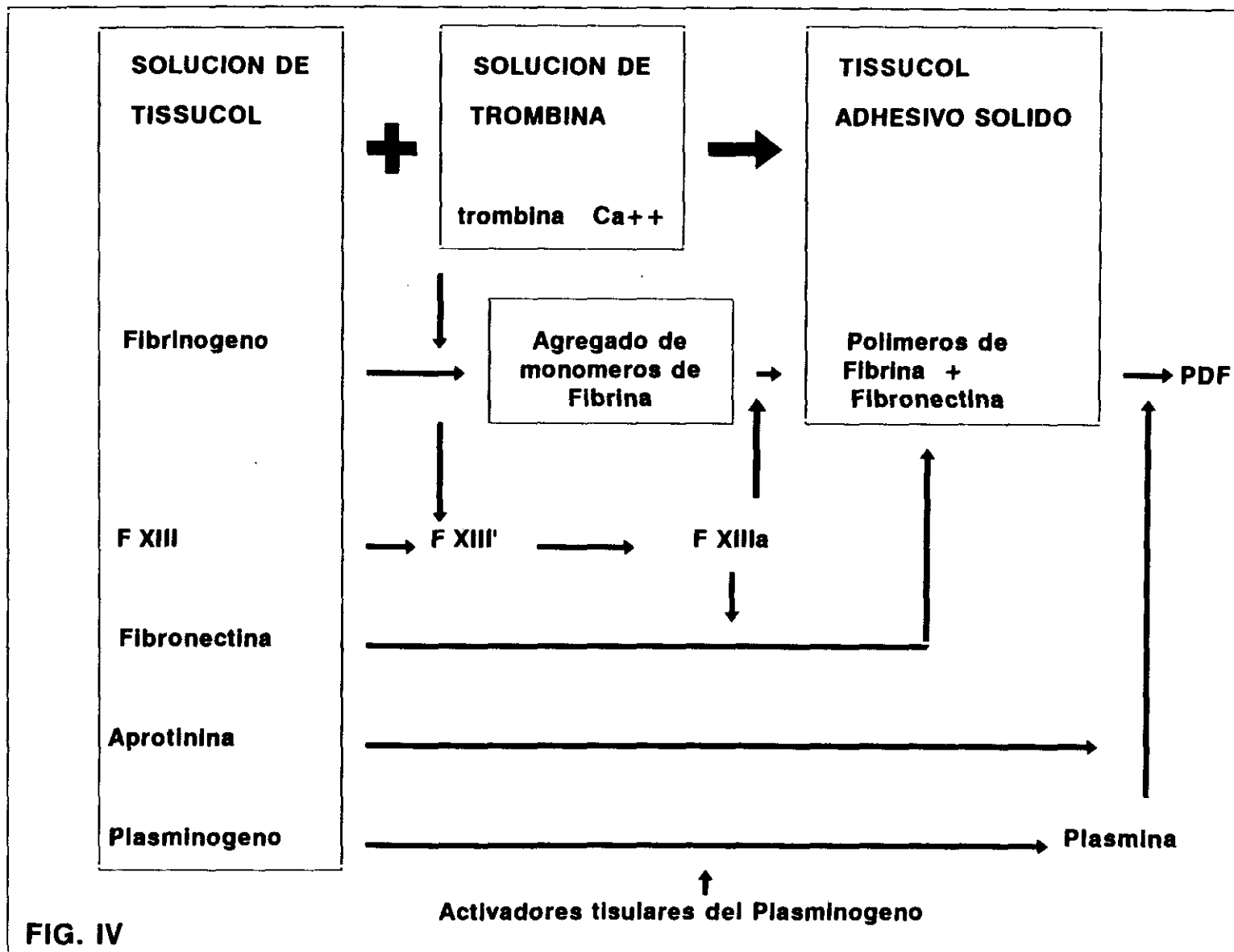
La anastomosis pancreatoyeyunal se ha realizado término-terminal, monoplano, y con sutura discontinua con material irreabsorbible de 4.0. Debido a que esta anastomosis se hace con la zona del cuello glandular que pasa por delante de la porta y que queda algo desvascularizada en la preparación del injerto, es necesario invaginarla bien en la luz del asa yeyunal. Los puntos en el parénquima no deben ser muy profundos, para evitar lesionar el conducto pancreático y la propia vascularización arterial del injerto, que, como ya se ha comentado, suele provenir de la arteria hepática común a través de una pequeña rama en proximidad anatómica con la zona pancreática a anastomosar.

El asa anastomótica se "marcó" con un hilo de sutura de seda para ayudar en su identificación en el momento de sacrificio del animal y extracción del injerto.

#### **\* Preparación y aplicación del Adhesivo Biológico de Fibrina (Tissucol)**

En el desarrollo de este ABF a partir de plasma humano se ha intentado imitar el proceso fisiológico de la coagulación, mediante la mezcla de dos componentes (Fig. IV): la solución de Tissucol (un concentrado proteico adherente reconstituido, consistente en fibrinógeno, factor XIII y otras proteínas) y una solución de trombina y cloruro cálcico, que se aplican al área deseada, donde se produce la consolidación.

Después de mezclar los dos componentes el fibrinógeno es transformado en monómeros de fibrina agregados que forman un gel.



Concomitantemente, en presencia de trombina y  $\text{Ca}^{2+}$ , el factor XIII se transforma en factor XIII activado (F XIIIa); este F XIIIa reacciona con la fibronectina y también con el agregado de monómeros de fibrina convirtiéndolo en un polímero de alto peso molecular, aumentando así su solidez y resistencia a la fibrinólisis.

El proceso de fibrinólisis se ve además enlentecido por un inhibidor (la aprotinina), añadida en la reconstitución de la solución de Tissucol, y que garantiza la estabilidad del adhesivo sólido durante varios días mientras avanza el proceso natural de cicatrización de los tejidos. En este proceso natural la estructura de fibrina del adhesivo solidificado sirve de matriz para el crecimiento de los fibroblastos y la síntesis de colágeno.

El adhesivo biológico de fibrina (ABF) se preparó en condiciones de esterilidad siguiendo las instrucciones del laboratorio fabricante (Instituto de Hemoderivados Immuno, S.A.), y se aplicó perianastomótico (y también intraductal en 2 animales).

Se utilizó el Kit Tissucol 2.0, con 2cc. de solución de Tissucol reconstituida y 2cc. de solución de Trombina 500 (solidificación rápida), por ser cantidad suficiente para la superficie anastomótica a sellar. En los 2 animales en los que también se realizó oclusión ductal se utilizó un kit adicional.

La mezcla contenía, pues, Fibrinógeno humano (110 mg/ml), solución de Aprotinina bovina (3.000 unidades desactivadoras de Kalidinogenasa/ml), Trombina 500 liofilizada bovina (500 UI/ml), y cloruro cálcico (40mmol/L).

Por disponer solamente del preparado comercial de ABF (Tissucol), no hemos podido realizar la oclusión ductal con un ABF modificado con mayor concentración de aprotinina y, por lo tanto, más estable frente a la acción del jugo pancreático (Zimmermann y cols., 1987; Waclawiczek y cols., 1989).

El Wirsung se cateterizaba con un Abbocath nº 22 y se procedía a la inyección del ABF, retirando progresivamente el Abbocath (Figs. 9 y 10). Para el "sellado" de la anastomosis pancreatoyeyunal se aplicó una capa de varios mm. con el aplicador de doble jeringa del Kit, observando que la mezcla se solidificaba en 10 a 15 segundos, adquiriendo un color blanquecino (Fig. 11).

#### \* Técnica de la "intestinalización del injerto"

Una vez vascularizado el aloinjerto pancreático se procedía al aislamiento de un asa "ciega" consistente en el ciego del animal y unos pocos cm. de íleon terminal; la continuidad intestinal se restablecía mediante sutura ileocólica término-terminal monopiano con material reabsorbible de 3.0.

Se procedía al lavado con suero del asa ciega a través de una sonda de Foley introducida por el extremo ileal, vaciando el efluente a través del extremo abierto del ciego.

A continuación se introducía el injerto en la bolsa cecal (Figs. 12 y 13), siendo necesaria la apertura de unos cm. de pared cecal para acoplar el pedículo vascular del injerto. Se ponía especial cuidado en no torsionar ni comprimir dicho pedículo vascular, fijando bien la

apertura cecal al retroperitoneo . Finalmente se suturaba el extremo cecal por donde se había introducido el injerto.

Al no poder utilizar el extremo ileal de la "bolsa cecal" como conducto de salida de la secreción exocrina debido a la existencia de una válvula muy muscular y competente, se cierra ese íleon terminal y se hace una anastomosis yeyunocecal en Y de Roux, obviando así la necesidad de sutura directa al parénquima glandular.

En resumen, la técnica implicaba tres anastomosis, ileocólica, yeyunocecal y yeyunoyeyunal, frente a las dos anastomosis de la pancreatoyeyunostomía clásica en Y de Roux (pancreatoyeyunal y yeyunoyeyunal).

#### \* Protocolo de inmunosupresión:

Se siguió en todos los animales la inmunosupresión triple más aceptada en la actualidad:

- Ciclosporina A ("Sandimmun", SANDOZ). Se administraban 4mg/Kg de peso y día, durante 9 días, en perfusión i.v. lenta de suero glucosado ó fisiológico.
- Azatioprina ("Imurel", GAYOSO-WELLCOME) 2mg/Kg de peso y día, durante 9 días, en inyección i.v. directa.
- Prednisolona ("Solu-Moderin", UPJOHN) 1.5mg/Kg de peso y día, i.v.. Esta dosis se iba disminuyendo progresivamente, durante los primeros 7 días, hasta 0.5mg/Kg y día, a partir del 7º día.

Las primeras dosis del tratamiento inmunosupresor eran administradas intraoperatoriamente, y todo el tratamiento se hizo sistemáticamente por

vía i.v. durante los 9 días, debido fundamentalmente a que la anorexia postoperatoria de muchos animales hacía poco fiable la vía oral, y a la interferencia del SMS 201-995 con la absorción oral de la ciclosporina A, comunicada en algunos trabajos (Rosenberg y cols., 1987; Landgraf y cols., 1987).

Se administró tratamiento anticoagulante postop. sistemático según la pauta ya comentada.

El análogo de somatostatina, SMS 201-995, (proporcionado por Lab. Sandoz y aún no comercializado en nuestro país) se administró (Grupos II y III) por vía s.c. a dosis de 100µg/12 horas, durante 5 días, administrando la primera dosis intraoperatoriamente.

FIG. 8 - MODELO DE ALOINJERTO. CLAMPAJE DE LA AORTA ABDOMINAL  
INFRARENAL Y ANASTOMOSIS ARTERIAL T-L FINALIZADA(→)  
(\*) VENA CAVA INFERIOR

FIG. 9 - ALOINJERTO VASCULARIZADO (★). CATETERIZACION DEL CONDUCTO  
PANCREATICO PARA INYECCION DEL ADHESIVO BIOLOGI-  
CO DE FIBRINA



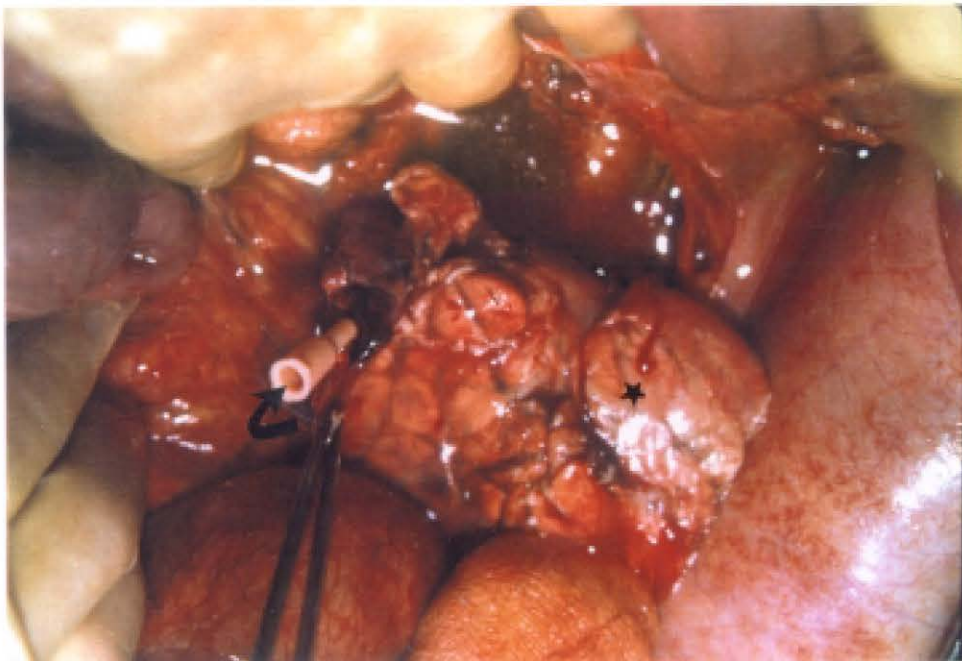
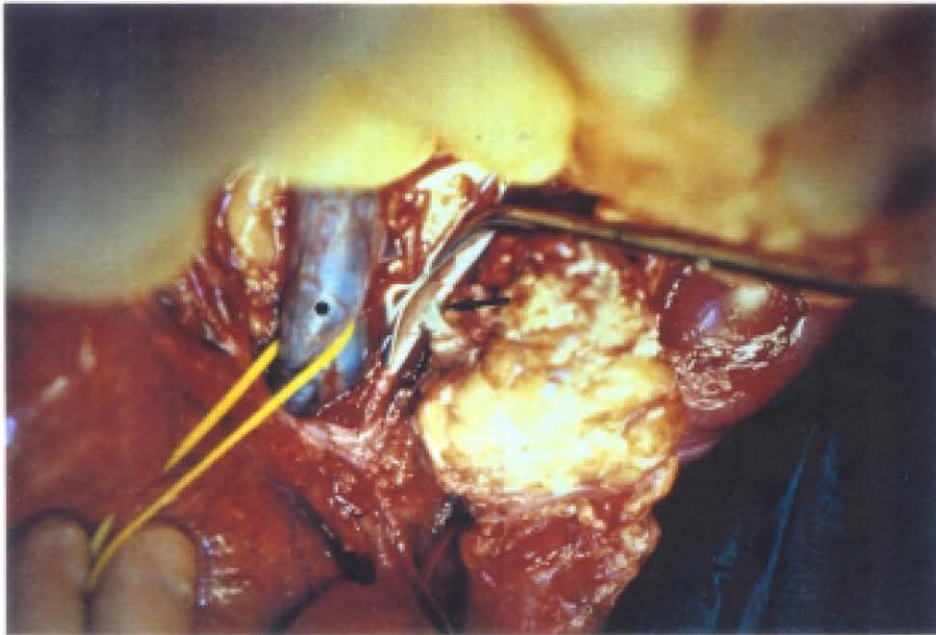


FIG. 10 - INYECCION DEL ABF INTRADUCTAL

FIG. 11 - ANASTOMOSIS PANCREATO-YEYUNAL CON EL ABF APLICADO EN  
LA ZONA PERIANASTOMOTICA (←)

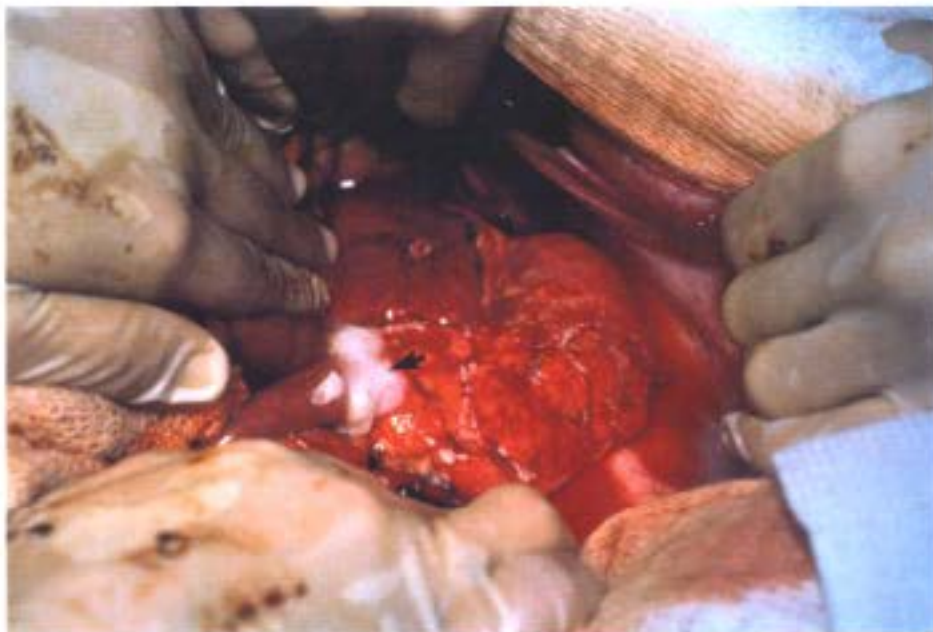
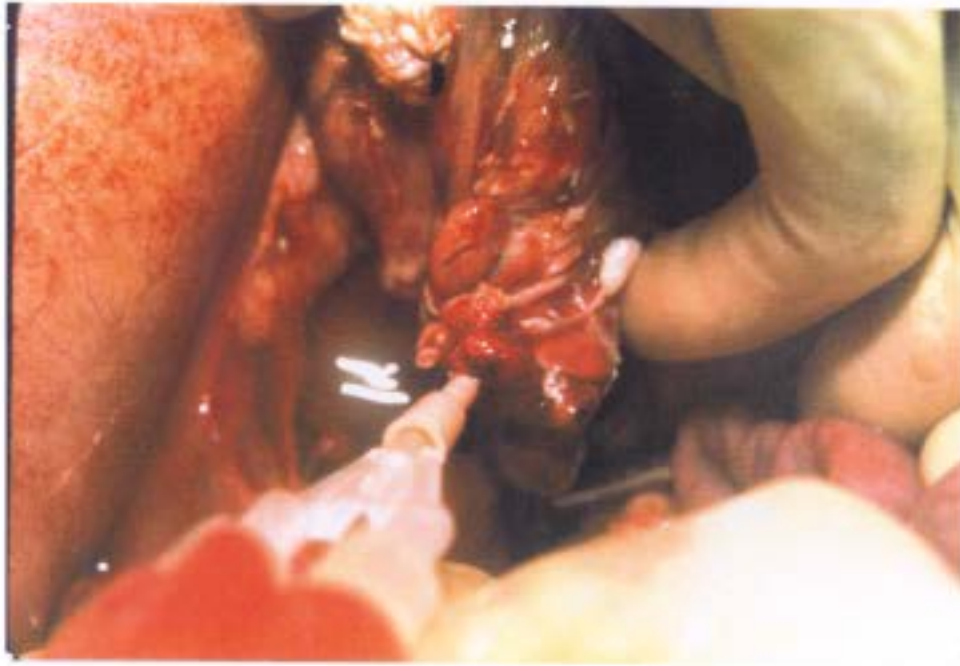
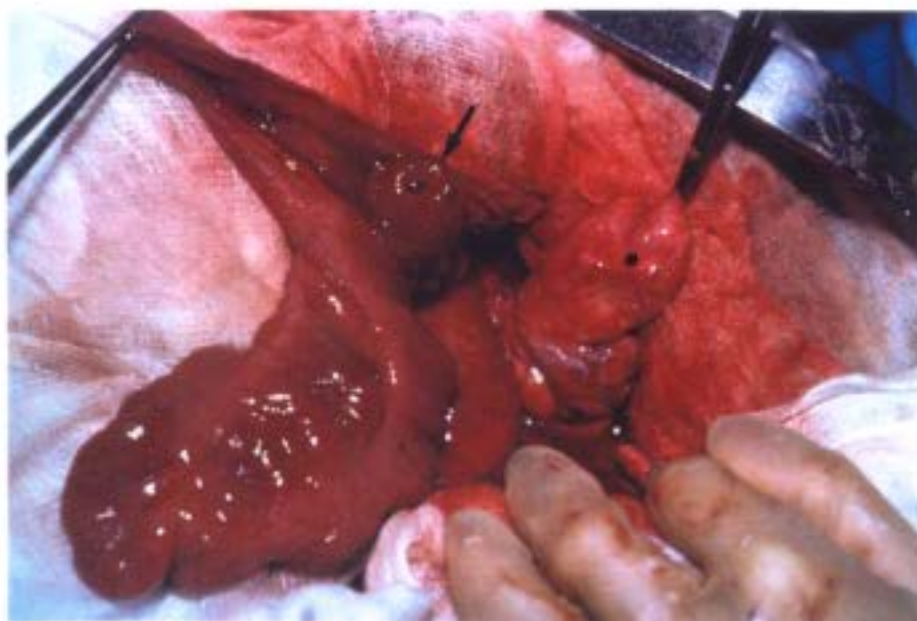


FIG. 12 - ALOINJERTO VASCULARIZADO ( \* ) Y "BOLSA CECAL" PRE-  
PARADA Y ABIERTA POR EL EXTREMO DE LA VALVULA ILEO-  
CECAL ( ➡ )

FIG. 13 - ALOINJERTO EN EL MOMENTO DE SER INTRODUCIDO EN LA  
"BOLSA CECAL" ( → )



### III.5. DURACION DEL PERIODO DE OBSERVACION POSTOPERATORIO. ESTUDIO

#### NECROPSICO

Las dificultades de estabulario para animales crónicos en el Dpto. de Medicina y Cirugía Experimental, así como la necesidad de inmunosupresión i.v. diaria, nos obligó a plantearnos un período de seguimiento postoperatorio no superior a los 10 días, excepto en los 10 animales de la Primera Fase, que han sido mantenidos hasta el momento del fallecimiento, sin practicárseles necropsia.

Al 9º ó 10º día postop. los animales supervivientes con injerto funcionante han sido sacrificados bajo anestesia general, con técnica quirúrgica no estéril, practicándose la extracción del injerto. En caso de fallecimiento anterior del animal se ha intentado practicar la necropsia para tratar de determinar la causa de la muerte. En los casos de cese brusco de funcionamiento de un injerto (glucemia superior a 150mg/dl por 2 días consecutivos) también ha sido sacrificado el animal para determinar la causa (trombosis vascular ó rechazo).

En la extirpación de los injertos durante el sacrificio ó la necropsia se ha puesto especial cuidado en la extracción de las anastomosis vasculares y la pancreatoyeyunal, tratando de evidenciar la presencia de posibles fístulas anastomóticas ó dehiscencias claras. Para ello se trataba de identificar el asa anastomótica (señalada con un hilo de seda), que era seguida hasta la anastomosis.

Asimismo se han determinado el volumen (medido por la cantidad de líquido aspirado) y las características macroscópicas (hemorrágica,

serosa ó purulenta) de las posibles colecciones líquidas periinjerto, con determinación de amilasa en las no purulentas.

En caso de absceso ó peritonitis se han tomado muestras para cultivo de gérmenes aerobios y anaerobios, tratando de determinar un posible origen intestinal de los mismos. Dichas muestras han sido procesadas en el Servicio de Microbiología Clínica (Dr.E.Bouza).

### III.5.1. Valoración macroscópica de la pancreatitis y las complicaciones sépticas intraabdominales.

Se han valorado macroscópicamente los siguientes parámetros:

- A) Presencia ó ausencia de Peritonitis localizada ó generalizada.
- B) Presencia ó ausencia de Colecciones fluidas periinjerto (no purulentas) y volumen aproximado de las mismas, con determinación de su contenido en amilasa.
- C) Presencia ó ausencia de necrosis del tejido circundante periinjerto.
- D) Características macroscópicas del injerto al corte, realizando 3 cortes transversales y valorando la presencia de edema, focos de hemorragia y/ó necrosis.

Hemos considerado la presencia de peritonitis como fundamentalmente secundarias a fístulas ó dehiscencias de la anastomosis pancreatoyeyunal, y no derivada de la posible pancreatitis del injerto. En base a los otros tres parámetros B), C) y D) se ha intentado establecer una Escala de Severidad de la Pancreatitis, siguiendo la

metodología de Augelli y cols.(1989), según la siguiente graduación macroscópica:

---

B) Colecciones Fluidas Periinjerto ricas en Amilasa:

ausencia : 0 puntos

<500 cc : 1 punto

>500 cc : 2 puntos

C) Necrosis Periinjerto:

ausencia : 0 puntos

localizada : 1 punto

generalizada : 2 puntos

D) Características macroscópicas del Injerto:

edema : 1 punto

focos de hemorragia : 1 punto

focos de necrosis : 1 punto

ausencia : 0 puntos

---

Así, cada animal tenía una graduación máxima de 7 puntos.

Esta valoración macroscópica de la severidad de la pancreatitis se ha correlacionado en cada animal con el estudio histológico. Así, si en un injerto existían signos histológicos de rechazo severo este animal no era valorado desde el punto de vista macroscópico.



### III.6. ESTUDIO HISTOLOGICO: PARAMETROS DE PANCREATITIS Y DE RECHAZO

Todos los injertos, tanto trombosados como funcionantes, han sido estudiados desde el punto de vista histológico.

Una vez fijados en formol salino al 10%, se procedía a la medición de las piezas y a un detenido estudio macroscópico, realizándose cortes transversales en segmentos de 1cm. de grosor aproximadamente.

Previamente se abrían y revisaban las anastomosis vasculares, tratando de evidenciar la presencia de trombos en los injertos necrosados.

De forma sistematizada se tomaron muestras a nivel de:

anastomosis vasculares

anastomosis intestinal

conducto de Wirsung

cabeza, cuerpo y cola del páncreas, así como de zonas con alteraciones macroscópicas más llamativas a nivel del resto del parénquima pancreático.

Los segmentos se incluyeron en parafina en autoprocesador y se realizaron cortes de 5 $\mu$  con microtomo de parafina tipo Minott, tiñéndose con hematoxilina-eosina, Pas de Schiff y Tricrómico de Masson para la tinción del conjuntivo.

Para el estudio histológico se han valorado una serie de parámetros, agrupados en dos bloques (Carpenter y cols., 1989):

-Parámetros de Pancreatitis e inespecíficos

-Parámetros de Rechazo

Entre los parámetros de pancreatitis inespecífica se han valorado:

- la necrosis enzimática
- la proliferación fibroblástica
- la fibrosis

Entre los parámetros de rechazo se han valorado:

- los infiltrados celulares
- la endotelitis
- la vasculitis
- la necrosis de coagulación

Cada uno de dichos parámetros se ha valorado en una escala de 0 a 3, de menor a mayor intensidad, y la suma de todos ellos ha dado el grado de pancreatitis inespecífica y el grado de rechazo. Así:

---

\* Pancreatitis inespecífica: 0 a 3 : leve  
4 a 6 : moderada  
7 a 9 : severa

\* Rechazo: 0 a 1 : mínimo  
2 a 5 : leve  
6 a 9 : moderado  
10 a 12 : severo

---

#### **IV. RESULTADOS**

#### IV.1. PRIMERA FASE: PANCREATECTOMIA TOTAL (N=10)

Dos animales fallecen en el postoperatorio inmediato por problemas anestésicos, falleciendo los 8 restantes entre el 7º y el 14º día postpancreatectomía.

En uno de los primeros animales se objetivó intraoperatoriamente una necrosis duodenal tras la pancreatectomía cefálica, lo que obligó a su exéresis y reanastomosis; en otros dos hubo que realizar esplenectomía de necesidad.

La evolución de los animales siguió un curso de deterioro progresivo, con anorexia, letargia y postración intensos en los últimos días.

Sóamente en 4 animales se pudo obtener un perfil bioquímico completo diario debido a los problemas iniciales en el mantenimiento de los catéteres i.v, lo que hizo necesario en los otros 4 una segunda anestesia para colocación de un nuevo catéter central para determinaciones analíticas.

Las Fig. V y VI ilustran la evolución de los diferentes parámetros analíticos.

- La glucemia basal media preop. fue de  $110 \pm 23\text{mg}/100\text{cc.}$  (rango: 80-157). En el primer día postop., tras la pancreatectomía total, ascendió a unos valores medios de  $268 \pm 156\text{mg}/100\text{cc.}$  (160-628) y al 7º día era de  $256 \pm 11\text{mg}/100\text{cc.}$  (238-261).
- La cifra de insulinemia basal media preoperatoria fue de  $4.2 \pm 0.7\mu\text{U}/\text{ml.}$ , y de  $2.7 \pm 0.6\mu\text{U}/\text{ml.}$  en el primer día postpancreatectomía.

Las determinaciones posteriores de insulinemia en esta Fase no han sido valorables.

- Las cifras de amilasemia basales fueron de  $5.400 \pm 2.000$  UI/L(3.750-9.550), bajando hasta  $3.150 \pm 480$  UI/L(2.300-3.650) al primer día postop., y  $1.200 \pm 425$  UI/L(560-1750) al 7º día postop.

- Las transaminasas sufrieron muy poca variación, siendo las basales preop. de: GOT:  $31 \pm 8$  U/L(21-39); GPT:  $35 \pm 8$  U/L(28-56).

Al primer día postop.: GOT:  $46 \pm 10$  U/L; GPT:  $34 \pm 4$  U/L.

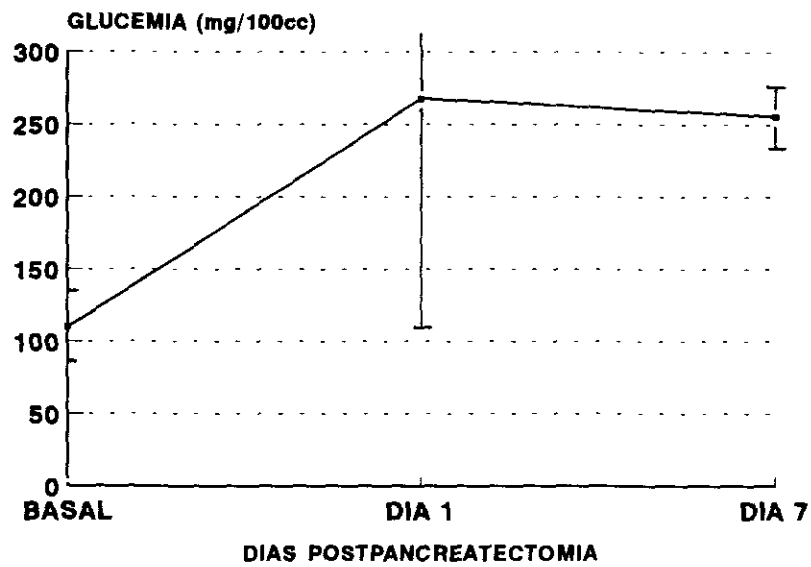
Al 5º día postop.: GOT:  $52 \pm 24$  U/L; GPT:  $44 \pm 21$  U/L.

- En algunos animales se midieron cuerpos cetónicos y glucosa en orina. Los cuerpos cetónicos aparecieron a partir del 2º día postop., y las cifras medias de glucosuria, al 4º día postop., fueron de  $18 \pm 7$ gr/L.

- La osmolaridad plasmática basal media de  $302 \pm 9$ mosm/L pasó a cifras de  $317 \pm 13$ mosm/L antes del fallecimiento.

# PANCREATECTOMIA TOTAL

## EVOLUCION DE LA GLUCEMIA



## EVOLUCION DE LA INSULINEMIA

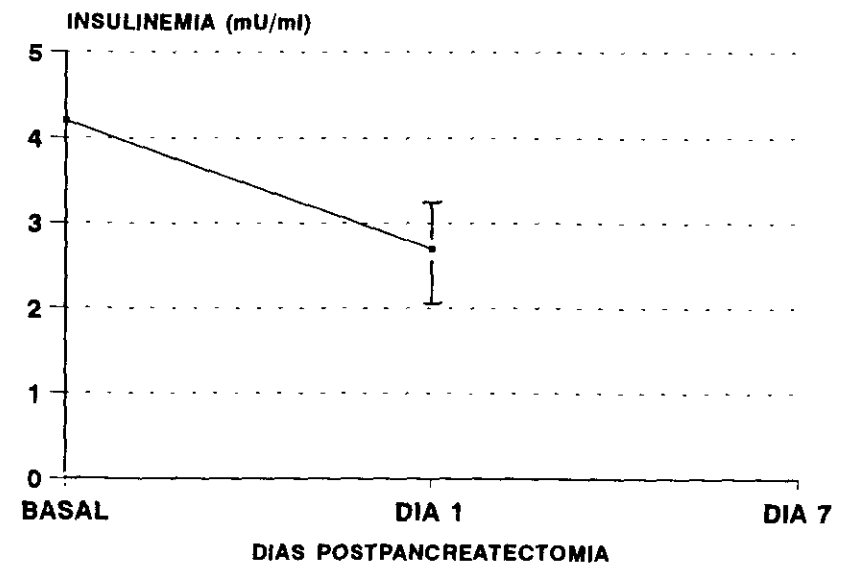
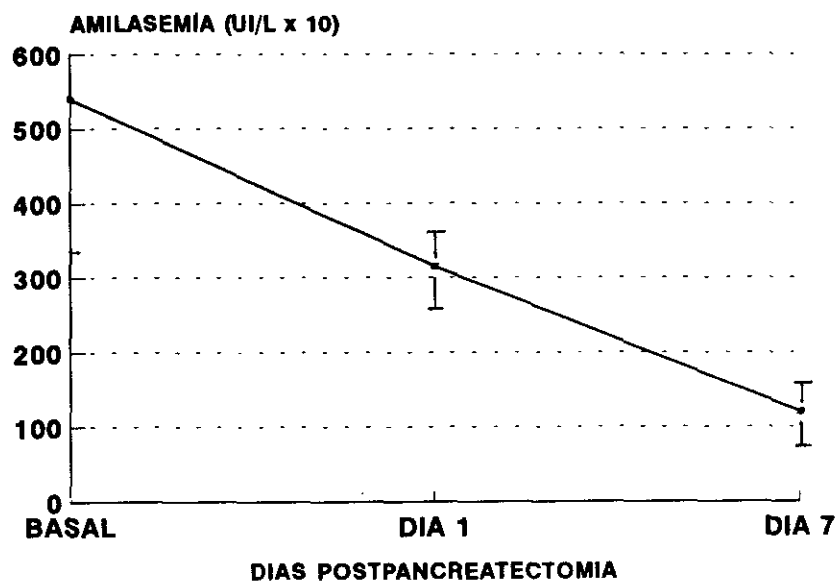


FIG. V

## PANCREATECTOMIA TOTAL

### EVOLUCION DE LA AMILASEMIA



### EVOLUCION DE LAS TRANSAMINASAS

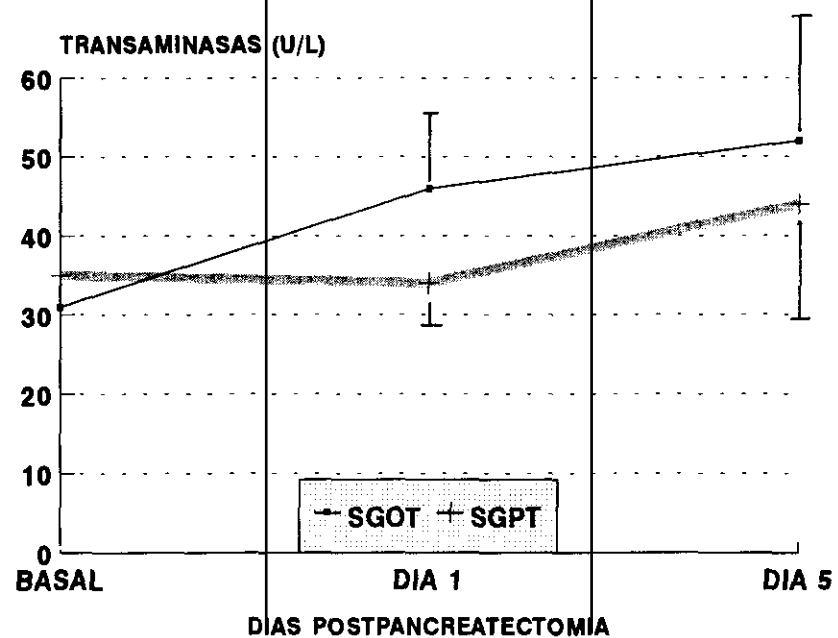


FIG. VI

#### IV.2. SEGUNDA FASE: MODELO DE AUTOINJERTO (N=25)

De los 25 animales intervenidos, se realizó un Autoinjerto pancreático sólo en 22; 3 tuvieron que ser sacrificados intraoperatoriamente debido a lesión accidental de la arteria pancreática (en uno de ellos existía una vascularización anómala).

##### GRUPO I: VASCULARIZACION UNICA DESDE LA ARTERIA HEPATICA COMUN (N=17)

Ninguna de las tres técnicas empleadas en la revascularización hepática en 15 de los 17 animales del Grupo I fue satisfactoria:

- 4 animales son sacrificados intraoperatoriamente (una vez realizado el Autoinjerto) por trombosis de la AHC consecutiva a su reconstrucción, lo que eleva el número de animales con sacrificio intraoperatorio a 7/25 (28%).

- 6 animales fallecen alrededor de las 48 horas postop. por necrosis hepática confirmada por la bioquímica hemática y clínica en todos, y por la necropsia en 3 de ellos.

Los animales mostraron los rasgos clínicos del fallo hepático, con abatimiento letárgico, incapacidad para ponerse de pié, ausencia de ingesta oral y coma pre-mortem. Además, tuvieron las elevaciones más altas de GOT en el primer día postop., llegando hasta cifras de 7.500 IU/L.

La necropsia practicada en 3 animales confirmó la trombosis de la AHC, y la histología hepática fue diagnóstica de necrosis isquémica.

- Sólo 4 de los 17 animales de este Grupo I sobreviven más de 48 horas a la cirugía, y sólo uno de ellos mantuvo una glucemia normal hasta el



sacrificio al 9º día postop. (en éste se había reconstruido la AHC con un segmento de arteria esplénica). Los otros 3 tuvieron glucemias altas desde el primer día postop., siendo sacrificados antes del 9º día para confirmación de la necrosis del autoinjerto.

- De los 3 animales restantes de este Grupo, 2 fallecen en el postoperatorio inmediato por problemas anestésicos, y el otro es sacrificado intraop. por lesión accidental de la arteria pancreática.

**GRUPO II : VASCULARIZACION UNICA DESDE LA ARTERIA ESPLENICA (N=6)**

**GRUPO III: VASCULARIZACION DOBLE, DESDE LA ARTERIA HEPATICA Y ESPLENICA  
(N=2)**

- Dos animales son sacrificados intraoperatoriamente por lesión accidental de la arteria pancreática (uno en cada Grupo).- Los 6 animales restantes sobreviven (100%) más de 48 horas postop., manteniendo 3 de ellos (50%) (todos del Grupo II) unas glucemias normales hasta el momento del sacrificio al 9º día postop. Los otros 3 tuvieron hiperglucemia desde el primer día postop.

En resumen, de los 10 animales autoinjertados que sobreviven más de 48 horas, sólo 4 mantienen una glucemia normal hasta el momento del sacrificio. De los otros 6 se realizó estudio necrópsico en 4, confirmándose la necrosis del injerto por trombosis vascular arterial.

## CUADRO RESUMEN : MODELO DE AUTOINJERTO

---

### GRUPO I (N=17):

5 animales son sacrificados intraoperatoriamente:

- 1 por lesión de la arteria pancreática
- 4 por trombosis de la AHC consecutiva a su reconstrucción.

2 animales fallecen en el postop. inmediato por problemas anestésicos

6 animales fallecen dentro de las 48 horas postop. por necrosis hepática.

4 animales sobreviven más de 48 horas:

- \* 1 autoinjerto funcionante

### GRUPO II (N=6):

1 animal es sacrificado intraoperatoriamente por lesión de la arteria pancreática.

5 animales sobreviven más de 48 horas:

- \* 3 autoinjertos funcionantes.

### GRUPO III (N=2):

1 animal es sacrificado intraoperatoriamente por lesión de la art. pancreática dominante.

1 animal sobrevive más de 48 horas, sin funcionar.

---

### Determinaciones Bioquímicas y Hormonales

Las Fig. VII, VIII y IX ilustran la evolución comparativa de la glucemia, insulinemia y amilasemia en los animales con autoinjerto funcionante y no funcionante.

#### \* ANIMALES CON AUTOINJERTO FUNCIONANTE (N=4):

- La Glucemia basal media preop. de  $101 \pm 5$  mg/100cc descendió a unos valores medios de  $70 \pm 6$  mg/100cc en el primer día postop., con unos valores de  $90 \pm 6$  mg/100cc al 7º día postop.

- La amilasemia pasó de unos valores basales medios preop. de  $5.400 \pm 470$  UI/L hasta unos valores de  $43.500 \pm 19.500$  UI/L al primer día postop., volviendo de nuevo a valores basales a partir del 5º-6º días postop.

- La insulinemia basal media preop. de  $4.1 \pm 1.4$   $\mu$ U/ml. duplicó su valor hasta una cifra de  $8.5 \pm 0.4$   $\mu$ U/ml. en el primer día postop., manteniéndose por encima de los valores basales hasta el momento del sacrificio.

- Las cifras de transaminasas basales medias preop. de: GOT:  $22 \pm 5$  U/L; GPT:  $32 \pm 8$  U/L, no sufrieron modificaciones apreciables en el postop.

El único animal del Grupo I (con sección de la arteria hepática) que sobrevivió con autoinjerto funcionante tuvo una elevación máxima de transaminasas al primer día postop. (GOT : 3.000 U/L; GPT : 620 U/L), con rápida normalización posterior.

- La osmolaridad basal media preop. fue de  $299 \pm 9$  mosm/L, y de  $300 \pm 3$  mosm/L antes del sacrificio.

\* ANIMALES CON SUPERVIVENCIA SUPERIOR A 48 HORAS Y AUTOINJERTO NO  
FUNCIONANTE (N=6):

- La Glucemia basal media preop. de  $105 \pm 7$  mg/100cc asciende a  $298 \pm 66$  mg/100cc en el primer día postop., manteniéndose alrededor de estas cifras hasta el sacrificio al 3º ó 4º día postop.

- La evolución de las cifras de amilasa en sangre fue similar a la de los animales con autoinjerto funcionante.

- La insulinemia basal media de  $5 \pm 1.8$   $\mu$ U/ml. bajó a  $2.1 \pm 1.04$   $\mu$ U/ml. en el primer día postop.

- Las cifras de transaminasas basales medias preop. de : GOT:  $17 \pm 3$  U/L, GPT:  $31 \pm 7$  U/L, subieron hasta cifras de : GOT:  $127 \pm 136$  U/L, GPT:  $71 \pm 56$  U/L al primer día postop.

\* ANIMALES QUE FALLECEN POR NECROSIS HEPATICA (N=6)

En los que fallecen alrededor de las 48 horas postop. por necrosis hepática existió una elevación marcada de transaminasas (hasta 7.500 UI/L de GOT-ASAT), no pudiéndose obtener perfiles bioquímicos completos en todos ellos por razones obvias.

Cuatro fallecen con cifras de glucemia elevadas, y los otros dos con glucemias normales e insulinemias elevadas.

# MODELO DE AUTOINJERTO

## EVOLUCION DE LA GLUCEMIA

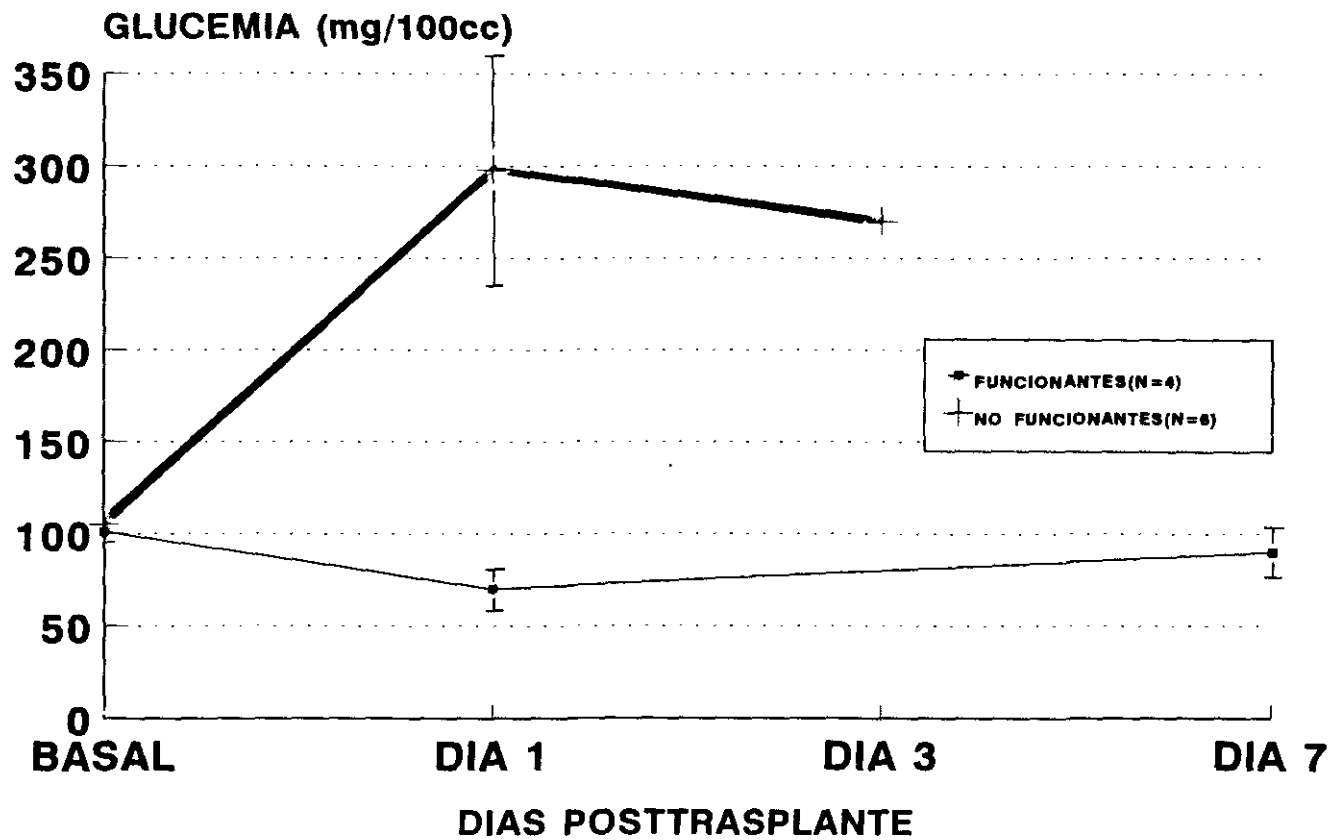


FIG. VII

# MODELO DE AUTOINJERTO

## EVOLUCION DE LA INSULINEMIA

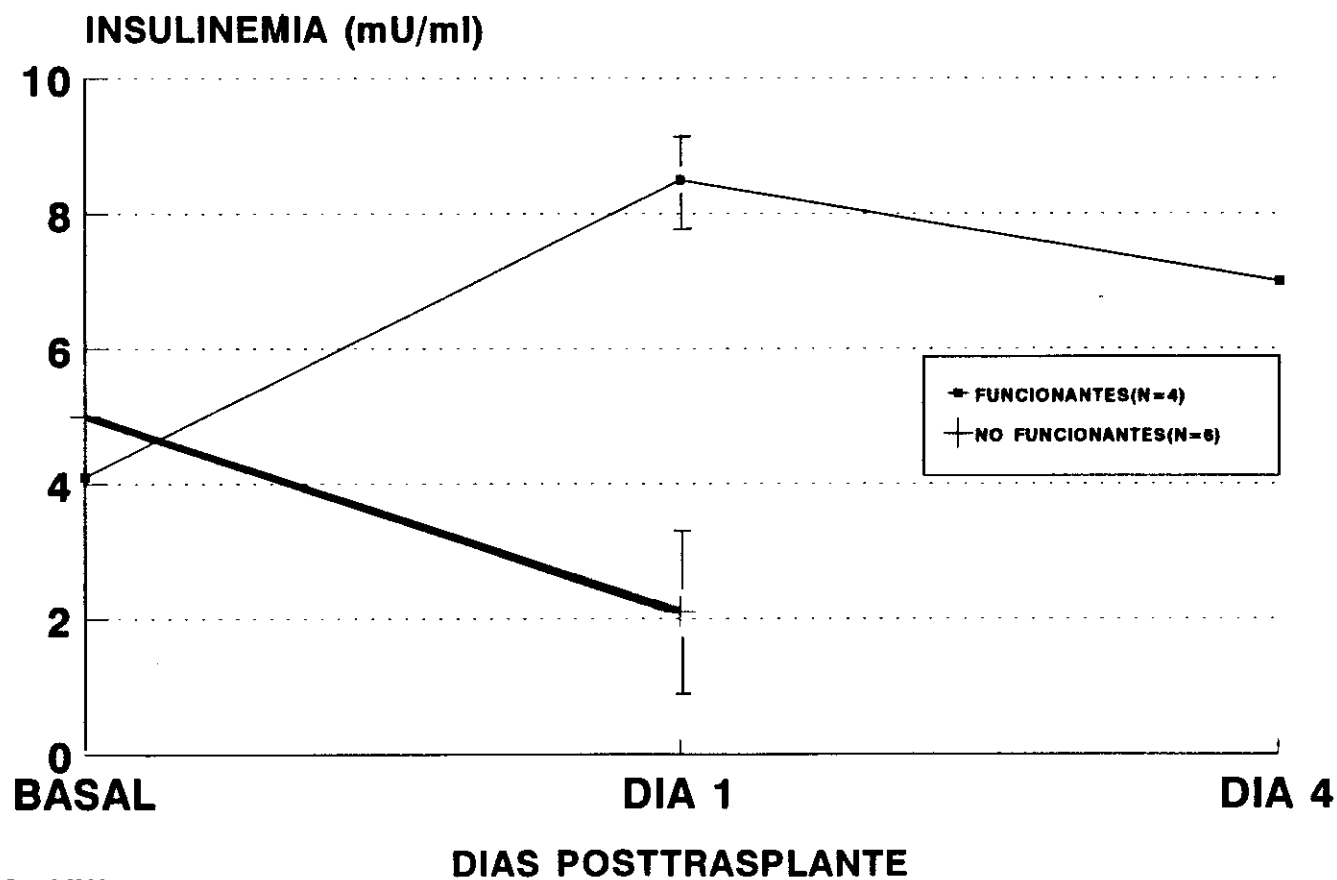


FIG. VIII

# MODELO DE AUTOINJERTO

## EVOLUCION DE LA AMILASEMIA

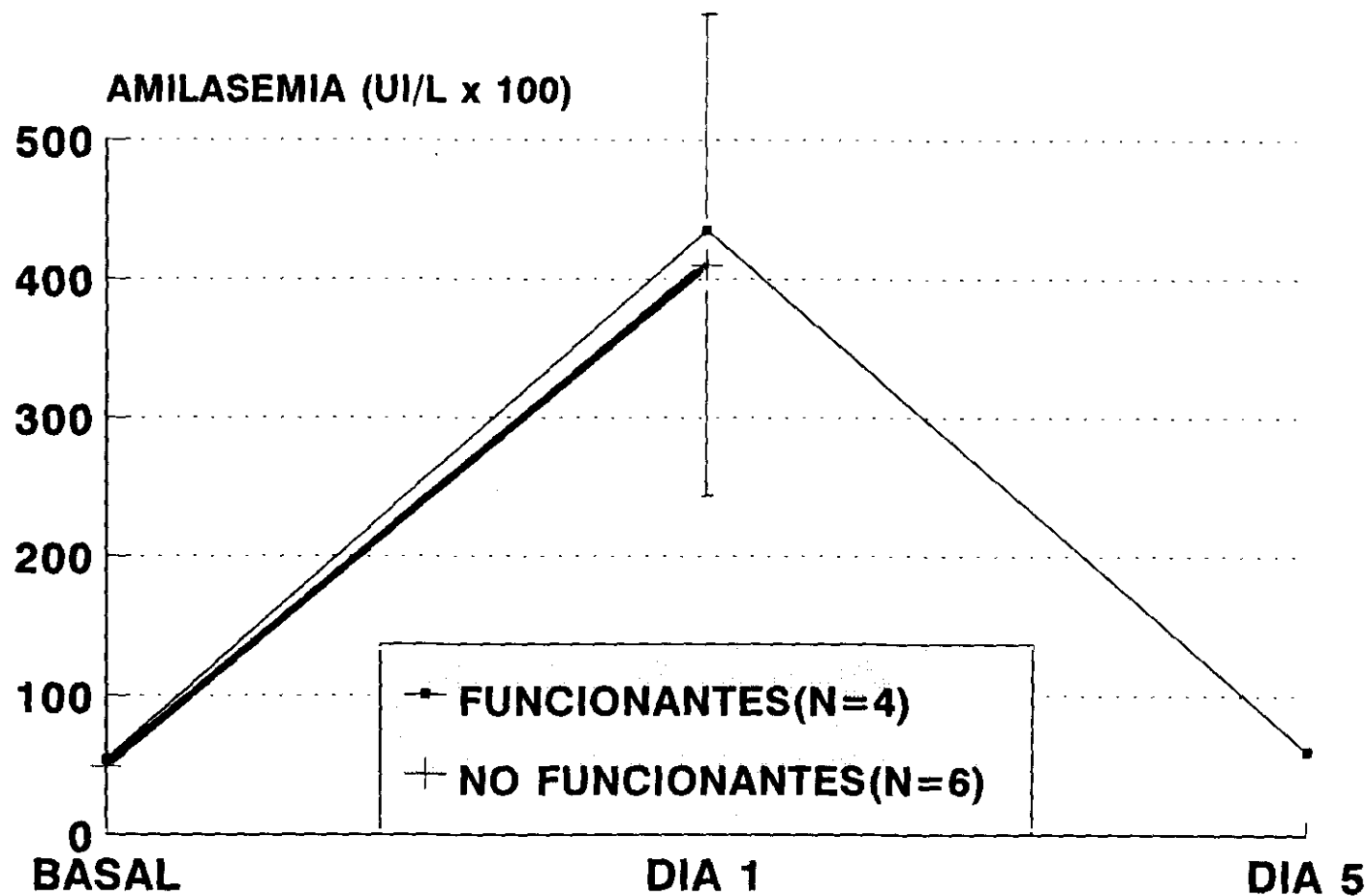


FIG. IX

### Hallazgos macroscópicos y Estudio histológico:

Durante el sacrificio, al 9º día, de los 4 animales con Autoinjerto funcionando, sólo en un animal se encontró una moderada cantidad de líquido periinjerto, existiendo pequeñas zonas de necrosis peripancreática. Los otros tres injertos tenían muy buen aspecto, con intensas adherencias al tejido circundante.

El estudio histológico de los injertos evidenció un parénquima pancreático relativamente bien preservado con áreas con componente glandular indemne y algunos infiltrados inflamatorios, con escaso edema y fibrosis (Fig. 14).

La histología hepática en los animales que fallecen por necrosis hepática consecutiva a trombosis de la AHC fue demostrativa de necrosis masiva del parénquima (Figs. 15 y 16).



FIG. 14 - MODELO DE AUTOINJERTO. SE OBSERVA UN PARENQUIMA PAN-  
CREATICO RELATIVAMENTE BIEN PRESERVADO, CON AREAS DE  
COMPONENTE GLANDULAR INDEMNE Y ALGUNOS INFILTRADOS /  
INFLAMATORIOS, CON ESCASO EDEMA Y FIBROSIS  
(HE 100x)

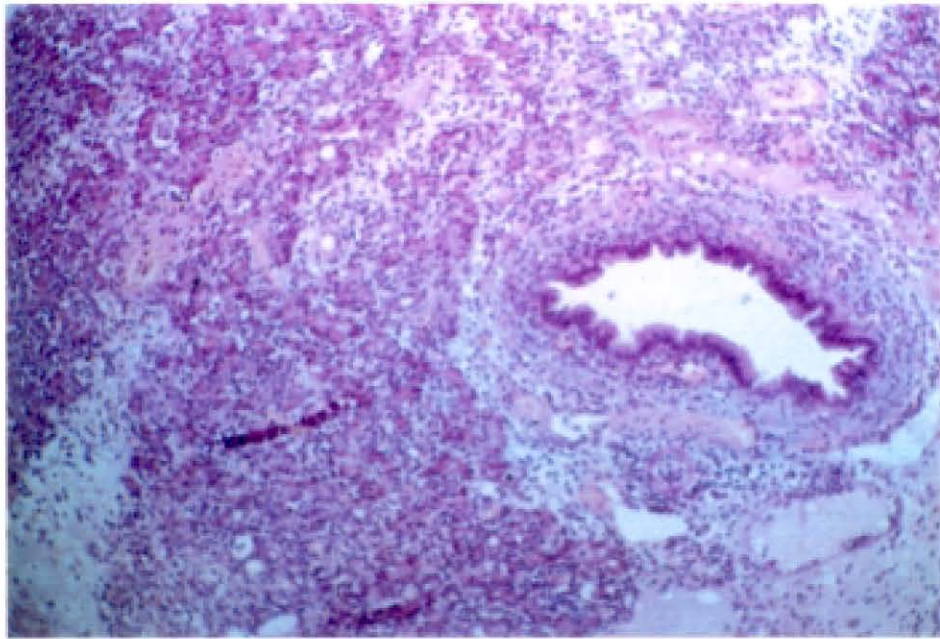
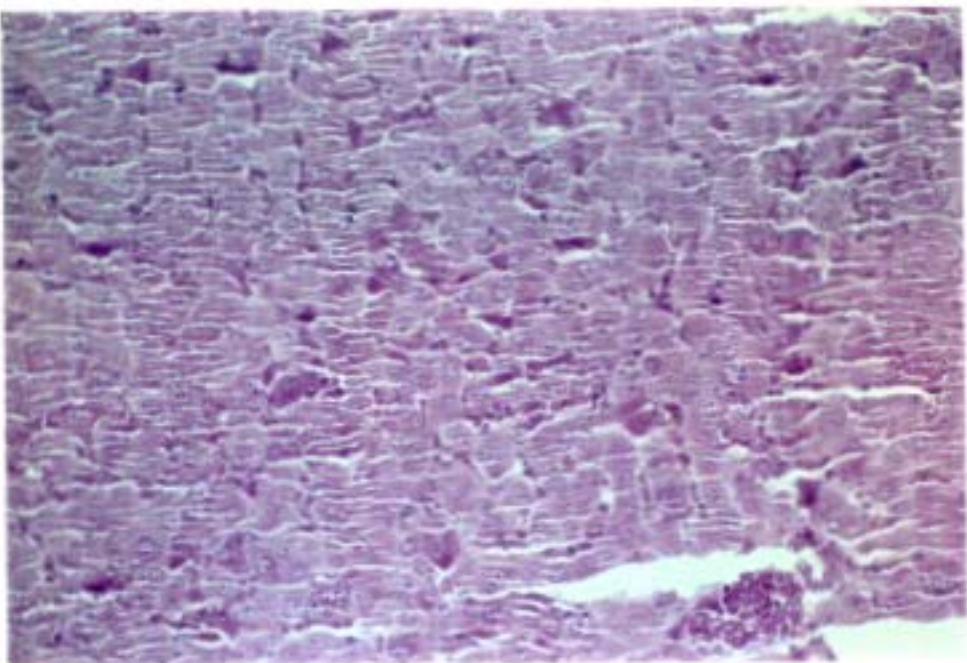
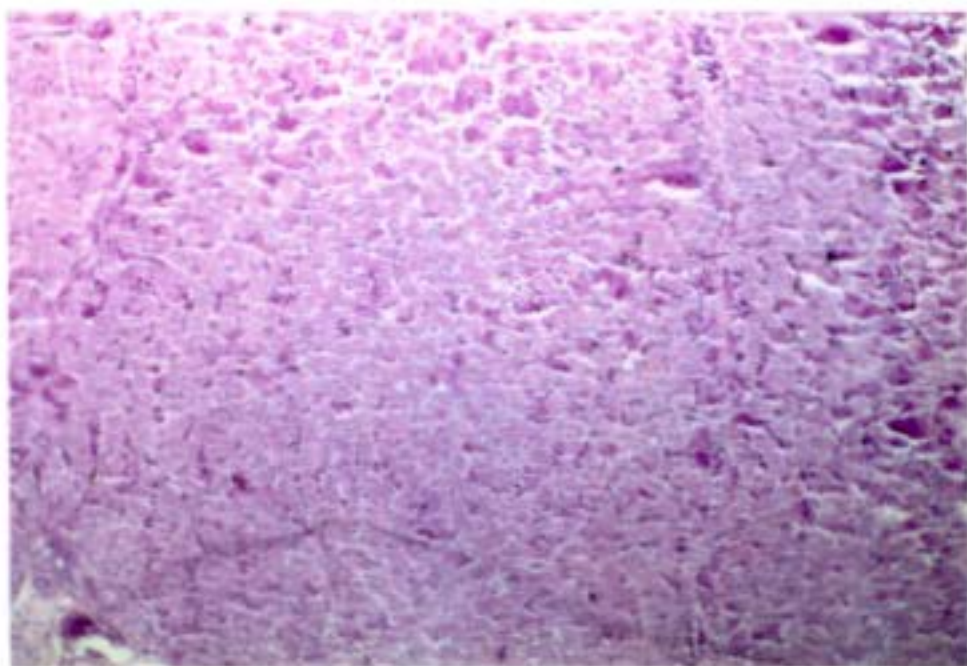


FIG. 15 - NECROSIS MASIVA DEL PARENQUIMA HEPATICO. (HE 100X)

FIG. 16 - SE OBSERVA NECROSIS MASIVA DEL PARENQUIMA HEPATICO,  
ENCONTRANDOSE DE FORMA AISLADA HEPATOCITOS MAL PRE-  
SERVADOS Y ALGUNAS CELULAS DE KUPFFER (HE 160X)



#### IV.3. TERCERA FASE : MODELO DE ALOJAMIENTO

##### IV.3.1. RESULTADOS DE VIABILIDAD

###### Ensayo 1 : Montaje del modelo (N=12)

-Un injerto no funcionó debido a una anomalía arterial (la irrigación principal provenía de la AMS en lugar del tronco celiaco), quedando mal vascularizado y siendo sacrificado intraop.

-Otro animal falleció en el postop. inmediato por problemas anestésicos, habiendo quedado el injerto muy bien perfundido.

De los 10 animales evaluables, en 6 funciona el injerto en el postoperatorio inmediato, trombosándose en 2 en el 2º día postop. (trombosis arteriales).

Tuvimos que sacrificar otro al 2º día, con injerto funcionando, por lesiones compatibles con una isquemia medular secundaria al clampaje aórtico. Los 3 restantes funcionan hasta el 5º día, confirmándose posteriormente el rechazo (en este Ensayo no disponíamos de CsA para el tratamiento inmunosupresor).

El porcentaje de trombosis precoces es difícil de analizar, pues 3 de los 4 injertos que no funcionan en el postop. inmediato quedaron mal vascularizados intraoperatoriamente. Si consideramos los 4 como trombosis precoces, el porcentaje de las mismas fue, pues, del 60%, y la incorporación del bazo en el injerto (Grupo B) no consiguió evitar el problema.

De los 4 animales con injerto no funcionando en el postop. inmediato, en 2 se evidenció trombosis arterial clara y en otro

trombosis venosa, no pudiendo precisar el patólogo el origen de la trombosis en el otro animal.

**Ensayo 2 : Estudio de diversos métodos de control de las complicaciones precoces derivadas del drenaje de la secreción exocrina (N=33)**

De los 33 animales en los que se realizó el Aloinjerto pancreático, 29(88%) sobreviven a la cirugía, falleciendo los otros 4(12%) en el postoperatorio inmediato, por diversas causas: uno por hemoperitoneo, dos por problema anestésico y otro de causa indeterminada.

De esos 29 animales, en 26(89.5%) funciona el injerto las primeras 48 horas, siendo rechazado uno al 6º día postrasplante y funcionando 21(72.5%) hasta el momento del sacrificio.

Hubo, pues, 7(24%) Aloinjertos que sufrieron necrosis de origen vascular, dejando de funcionar 3 en las primeras 24 horas, 2 al 3er día postop. y otros 2 al 4º día.

La causa de la necrosis del Aloinjerto se ha supuesto de origen arterial en 5 animales, por las características macroscópicas del injerto durante el sacrificio, aunque el patólogo sólo pudo encontrar trombos intraarteriales en 4 casos. En los otros 2 no se pudo determinar con seguridad si la necrosis fue por trombosis venosa ó rechazo, al presentar los injertos un infarto hemorrágico masivo. Sin embargo, apuntaban hacia el rechazo el color rojo-vinoso intenso de los injertos y la ausencia de trombos venosos macro- ni microscópicos.

En el Cuadro-Resumen se analizan estos resultados por grupos:

## CUADRO RESUMEN : MODELO DE ALOILIBERTO

---

### GRUPO I (control): P-Y clásica (N=7):

- uno se trombosa al 1er día
- otro fallece en el postop. inmediato por hemoperitoneo
- funcionan 5 (71.5%)

### GRUPO II : P-Y clásica + SMS-201-995 (N=10):

- tres se trombosan, al 1er, 3º y 4º días postop. (\*)
- otro es rechazado al 6º día postop.
- funcionan 6 (60%)

### GRUPO III : P-Y clásica + SMS-201-995 + ABF perianastomótico (N=8):

- dos se trombosan, al 1º y 4º días postop.
- otro fallece por problema anestésico.
- funcionan 5 (62.5%)

### GRUPO IV : Intestinalización del injerto (N=8):

- uno se trombosa al 3er día postop.
- dos fallecen en el postop. inmediato, uno por problema anestésico y otro por causa indeterminada.
- funcionan 5 (62.5%)

---

(\*) (uno tenía una vascularización arterial anómala y probablemente doble, con una rama proveniente de la AMS, y quedó con una vascularización muy marginal intraoperatoriamente).

Si consideramos globalmente los 39 Aloinjertos evaluables de los 45 realizados en esta fase experimental, observamos que el porcentaje de trombosis fue del 33% (13 animales); de ellas, 9 fueron arteriales, 1 venosa, y en los otros 3 no se pudo determinar con precisión.

La mayoría de las trombosis ocurrieron en el postoperatorio inmediato ó dentro de las primeras 48 horas (9 animales: 69%), no evidenciando ninguna después del 4º día postrasplante.

#### **IV.3.2. DETERMINACIONES BIOQUIMICAS Y HORMONALES**

(En 3 animales del Ensayo 1 y en 5 del Ensayo 2 fue necesaria una segunda anestesia general para colocación de un nuevo catéter venoso para determinaciones analíticas).

##### **ENSAYO 1:** (N=12)

- La glucemia basal media preop. fue de  $98 \pm 22$  mg/100cc (71-154).

En los 4 animales con injerto no funcionante en el postop. inmediato, la glucemia ascendió hasta  $301 \pm 31$  mg/100cc el primer día postop., siendo de  $297 \pm 22$  mg/100cc el 2º día.

En los 6 animales con injerto funcionante en el postop. inmediato bajó hasta una cifra media de  $86 \pm 23$  mg/100cc (70-136) en el primer día postop.

- La insulinemia basal media preop. fue de  $3.1 \pm 1.9$   $\mu$ U/ml, bajando hasta  $2.3 \pm 0.9$   $\mu$ U/ml en los no funcionantes, y subiendo hasta  $4.1 \pm 1.2$   $\mu$ U/ml en los funcionantes, al primer día. Al 4º día fue de  $7.0 \pm 3.3$   $\mu$ U/ml en los tres Aloinjertos funcionantes.



- La amilasemia basal media preop. fue de  $5.000 \pm 2.850$  UI/L, siendo de  $29.500 \pm 8.500$  UI/L al primer día en los no funcionantes, y de  $40.300 \pm 12.100$  UI/L en los funcionantes.

## **ENSAYO 2: (N=33)**

La evolución clínica postoperatoria de los 21 animales con Aloinjerto funcionante hasta el final fue satisfactoria desde los primeros días postrasplante, levantándose en la jaula desde las 24-48 horas siguientes a la cirugía y no manifestando los signos de abatimiento letárgico de los animales diabéticos.

Mantuvieron una buena función renal, manifestada por el ionograma y unas cifras normales de urea y creatinina, y propiciada por una ingesta normal de agua. Sin embargo, la ingesta de alimento sólido fue muy irregular y escasa en una mayoría de animales.

Las Fig. X y XI y las Tablas I y II ilustran y recogen la evolución de las cifras de glucemia e insulinemia de los animales con Aloinjerto funcionante y no funcionante.

## **\*Niveles séricos de Ciclosporina-A (ng/ml):**

En 8 animales se obtuvieron niveles séricos de Ciclosporina-A al 4º y 9º días postoperatorios. Dichos niveles han sido muy variables de un animal a otro, a pesar de haber administrado las mismas dosis del fármaco inmunosupresor en todos ellos. Los valores medios de estos niveles de CsA vienen reflejados en la Tabla III.

# MODELO DE ALOINJERTO (N=33) EVOLUCION DE LA GLUCEMIA

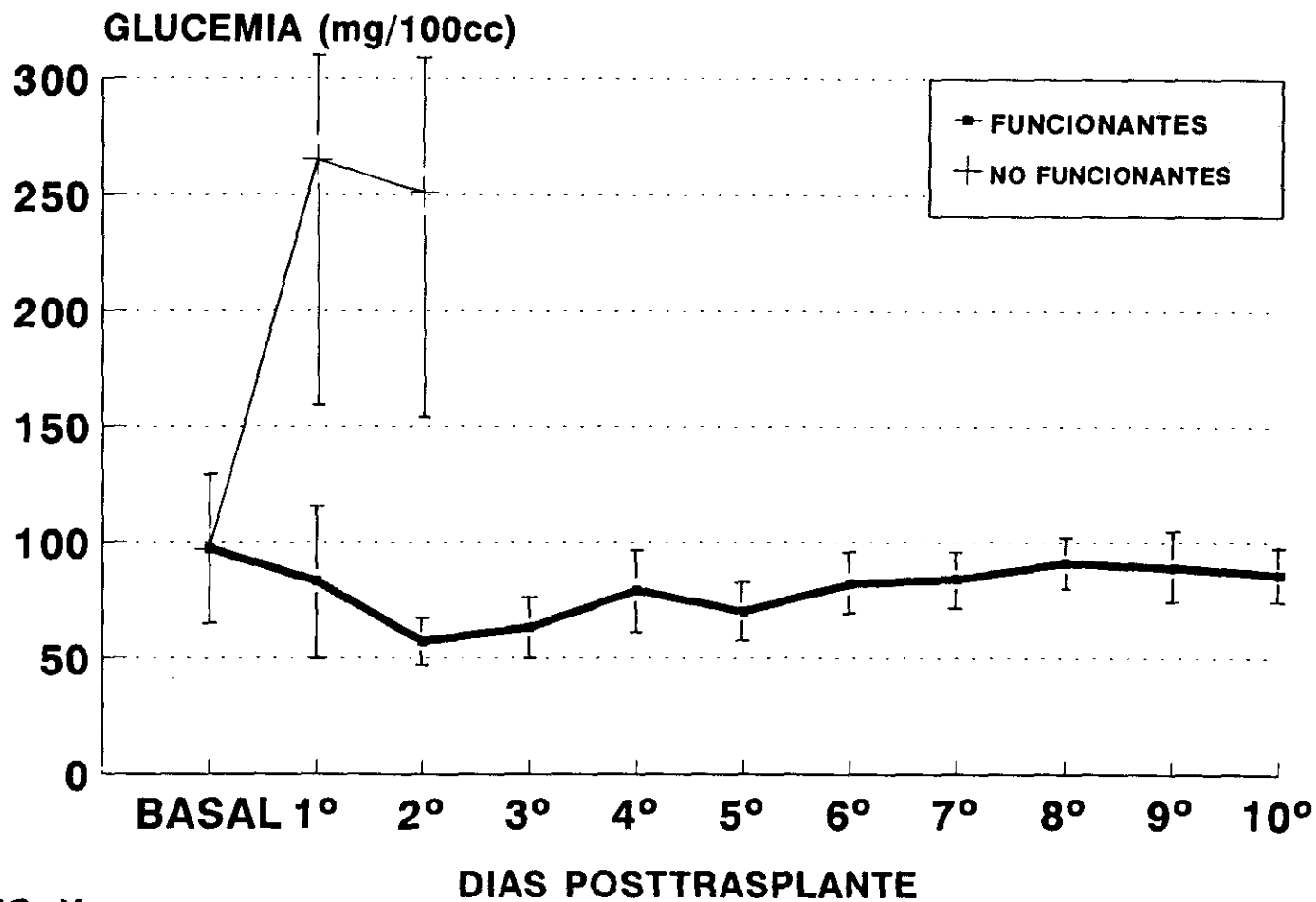


FIG. X

## MODELO DE ALOINJERTO (N=33) EVOLUCION DE LA INSULINEMIA

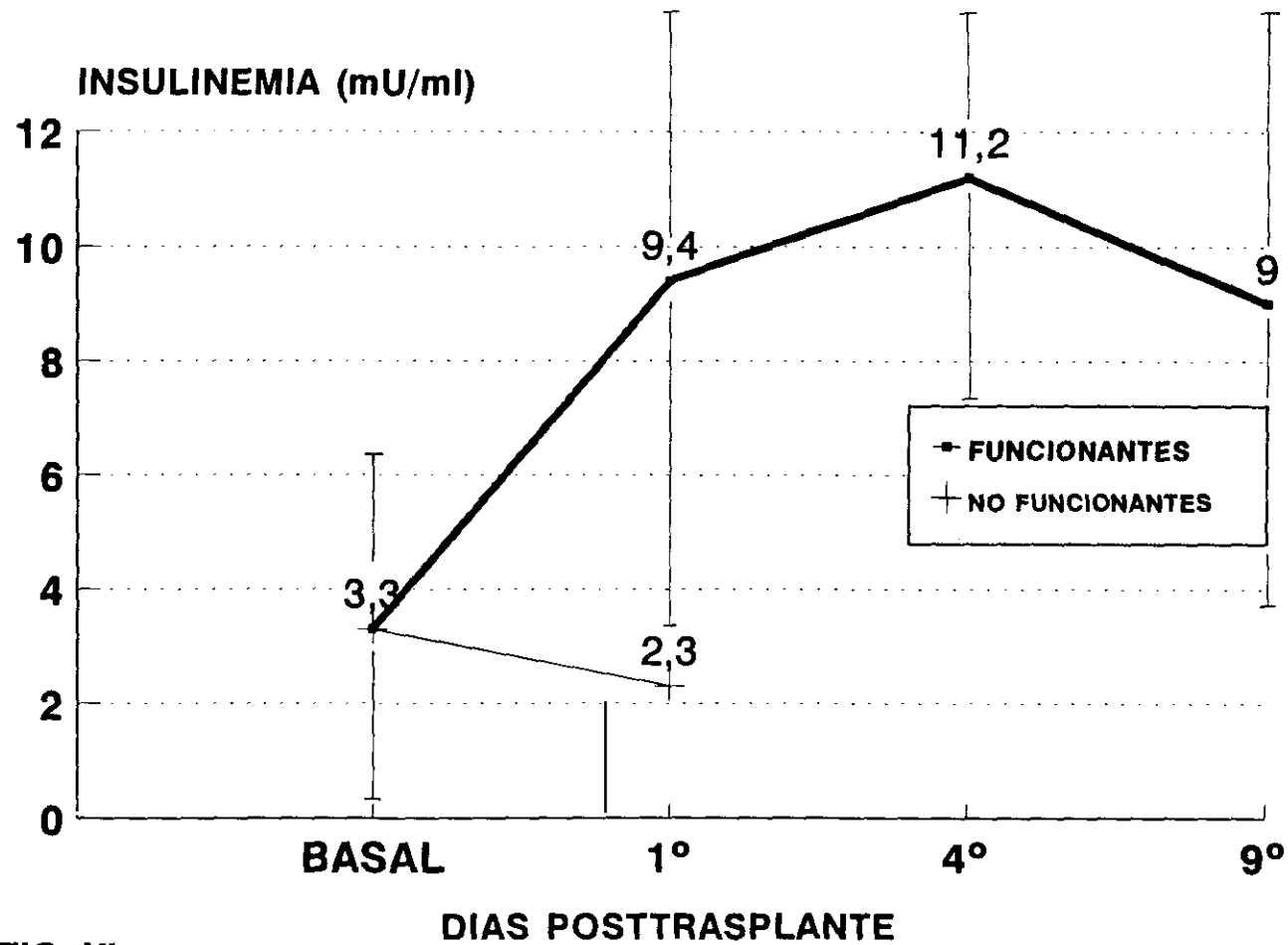


FIG. XI

---

### EVOLUCION DE LA GLUCEMIA

---

- basal media preop....  $97 \pm 29$  mg/100cc(60-186).
  - 1er día postop.....  $83 \pm 30$  mg/100cc(38-205) en los 26 animales  
con injerto funcionante,  
 $265 \pm 108$  mg/100cc(194-453) en los 3 animales  
con injerto no funcionantes.
  - 2º día postop.....  $57 \pm 7$  mg/100cc(42-70) en los 26 animales  
con injerto funcionante.  
 $251 \pm 96$  mg/100cc(117-336) en los 3 animales  
con injerto no funcionante.
  - 3er día postop.....  $63 \pm 13$  mg/100cc(36-95) en los 24 funcionantes
  - 4º día postop.....  $79 \pm 20$  mg/100cc(55-155) en los 22 funcionantes
  - 5º día postop.....  $70 \pm 16$  mg/100cc(30-96) en los 22 funcionantes
  - 6º día postop.....  $82 \pm 15$  mg/100cc(57-106) en los 21 funcionantes
  - 7º día postop.....  $84 \pm 14$  mg/100cc(61-120) en los 21 funcionantes
  - 8º día postop.....  $91 \pm 14$  mg/100cc(71-115) en los 21 funcionantes
  - 9º día postop.....  $89 \pm 20$  mg/100cc(54-142) en los 21 funcionantes
  - 10º día postop.....  $86 \pm 13$  mg/100cc(71-108) en los 21 funcionantes.
- 

TABLA I

---

### EVOLUCION DE LA INSULINEMIA

---

- basal media preop.....  $3.3 \pm 2.7$   $\mu\text{U/ml}$  (0.8-13.5)
  - 1er día postop.....  $9.4 \pm 6.0$   $\mu\text{U/ml}$  (0.3-31.9) en los 26 animales  
con injerto funcionante.
  - 4º día postop.....  $11.2 \pm 5.1$   $\mu\text{U/ml}$  (4.7-20.8) en los 22 animales  
con injerto funcionante
  - 9º día postop.....  $9.0 \pm 5.4$   $\mu\text{U/ml}$  (1.7-22.1) en los 21 animales  
con injerto funcionante hasta el final.
- 

### TABLA II

---

### NIVELES DE CICLOSPORINA A

---

- 4º día postransplante.....  $72 \pm 38$  ng/ml (30-134)
  - 9º día postransplante.....  $39 \pm 15$  ng/ml (25-65)
- 

### TABLA III

#### IV.3.2.1. Efecto del SMS 201-995 sobre el funcionamiento endocrino del injerto :

En las Fig. XII y XIII y en la Tabla IV se ilustran y comparan las cifras medias de glucemia e insulinemia postransplante entre los grupos sin SMS 201-995 (I y IV) y con SMS 201-995 (II y III).

Se observa que no existieron diferencias significativas entre ambos grupos, por lo que la administración del octreótido no pareció influir en el funcionamiento endocrino del injerto.

#### \* Test de sobrecarga i.v. de glucosa. Determinación del valor "K"

Se realizó en 10 animales de los 21 con aloinjerto funcionante, observando en todos ellos una excelente respuesta de secreción insulínica, con unos valores "K" normales y muy alejados del perfil diabético (Fig. XIV). En 3 de ellos se realizó además curva de insulinemia (ejemplo en Fig. XV).

El valor medio de "K" obtenido fue de  $2.64 \pm 0.76$ .

Si comparamos los valores medios de "K" en los grupos sin SMS 201-995 (I y IV) y con SMS 201-995 (II y III), observamos un valor discretamente más alto en los animales tratados con el octreótido:

---

	sin SMS 201-995 (n=10)	con SMS 201-995 (n=11)	"t"	p
"K".....	$2.12 \pm 0.78$	$3.06 \pm 0.62$	2.0603	N.S.

---

## EFECTO DEL SMS 201-995 SOBRE LA GLUCEMIA (N=21)

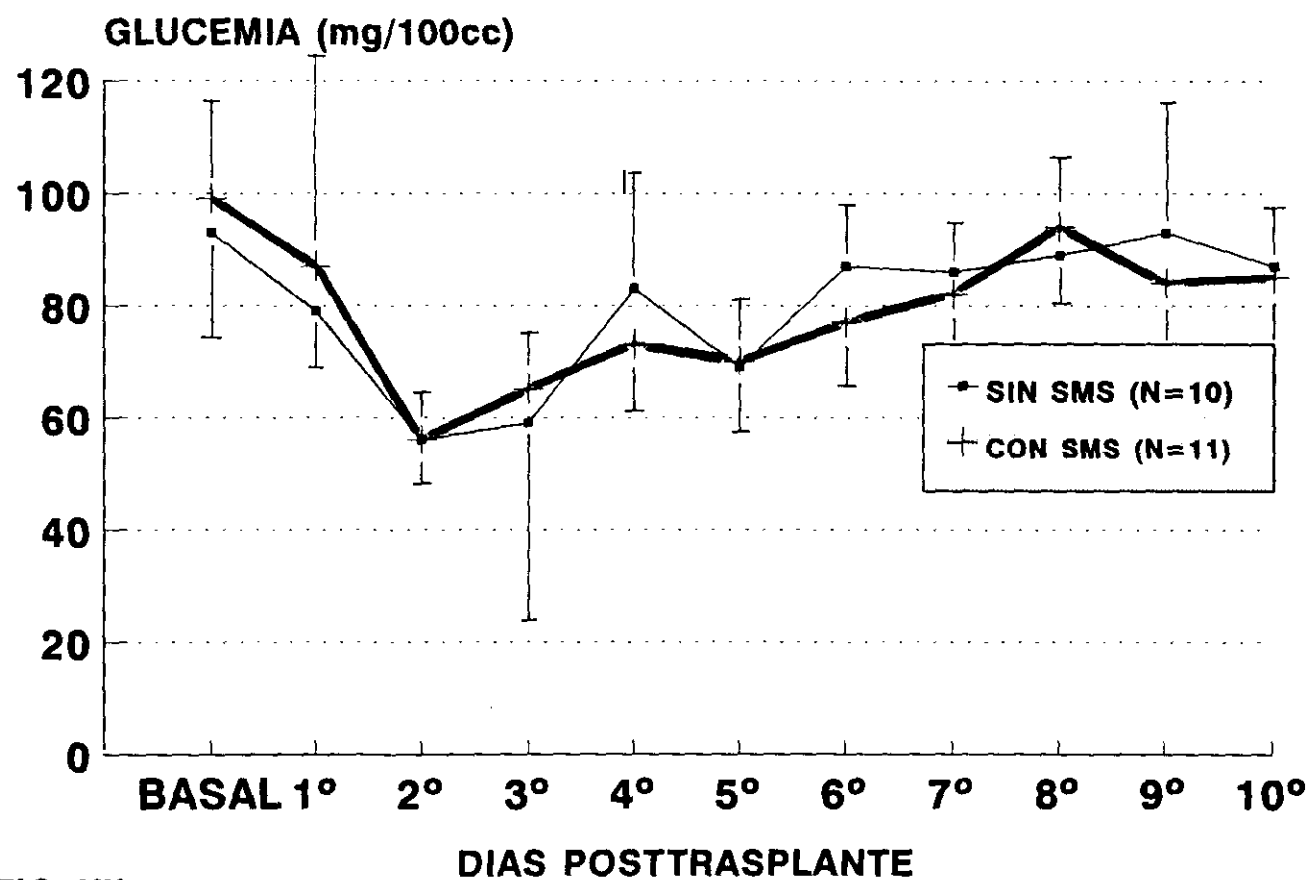


FIG. XII

# EFFECTO DEL SMS 201-995 SOBRE LA INSULINEMIA (N=21)

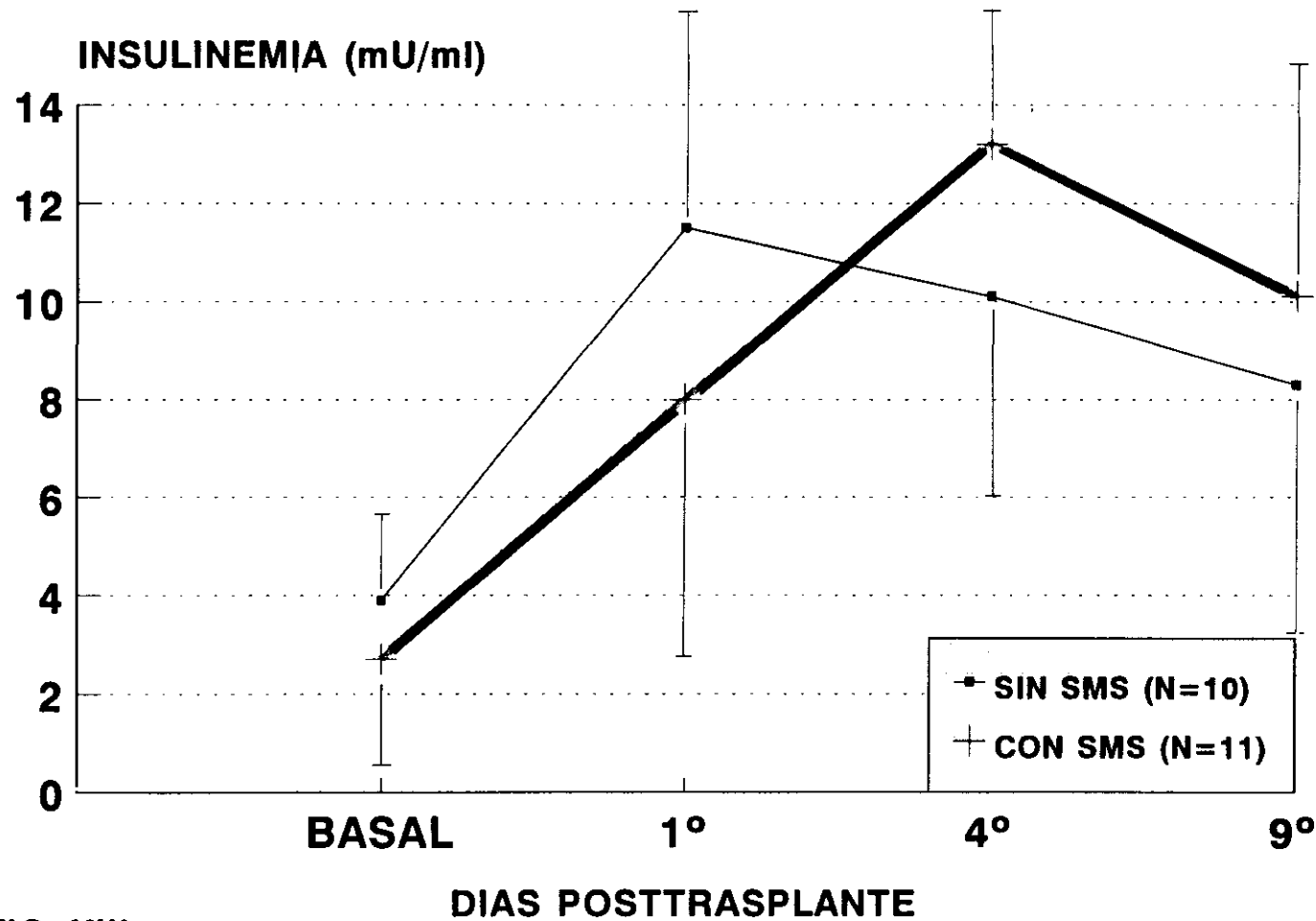


FIG. XIII



GLUCEMIA (mg/100cc)				
	sin SMS (N=10)	con SMS (N=11)	(t)	p
basal.....	93 ± 21	99 ± 17		
1º .....	79 ± 10	87 ± 41	0.5547	N.S.
2º .....	56 ± 7	56 ± 8	0.1052	N.S.
3º .....	59 ± 36	65 ± 8	1.3414	N.S.
4º .....	83 ± 25	73 ± 13	0.8965	N.S.
5º .....	69 ± 18	70 ± 15	0.1404	N.S.
6º .....	87 ± 13	77 ± 15	0.8473	N.S.
7º .....	86 ± 8	82 ± 17	0.6630	N.S.
8º .....	89 ± 14	94 ± 14	0.4928	N.S.
9º .....	93 ± 22	84 ± 14	1.6720	N.S.
10º .....	87 ± 10	85 ± 15	1.0361	N.S.

INSULINEMIA (µU/ml)				
	sin SMS (N=10)	con SMS (N=11)	(t)	p
basal .....	3.9 ± 1.7	2.7 ± 2.3		
1º .....	11.5 ± 4.9	8.0 ± 5.2	0.9836	N.S.
4º .....	10.1 ± 3.9	13.2 ± 4.1	0.8411	N.S.
9º .....	8.3 ± 4.8	10.1 ± 5.2	0.0889	N.S.

TABLA IV

# TEST DE SOBRECARGA I.V. DE GLUCOSA VALORES "K"

VALORES "K"

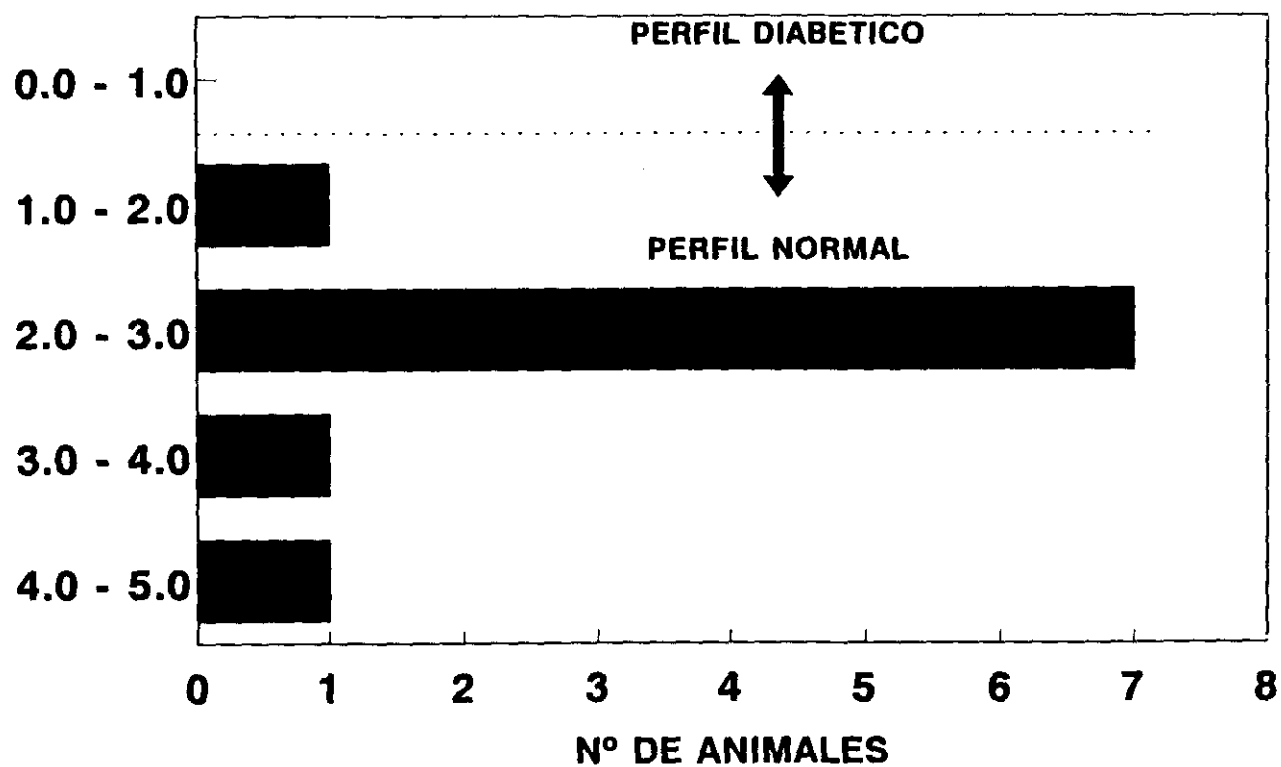


FIG. XIV

## TEST DE SOBRECARGA I.V. DE GLUCOSA CURVAS DE GLUCEMIA E INSULINA

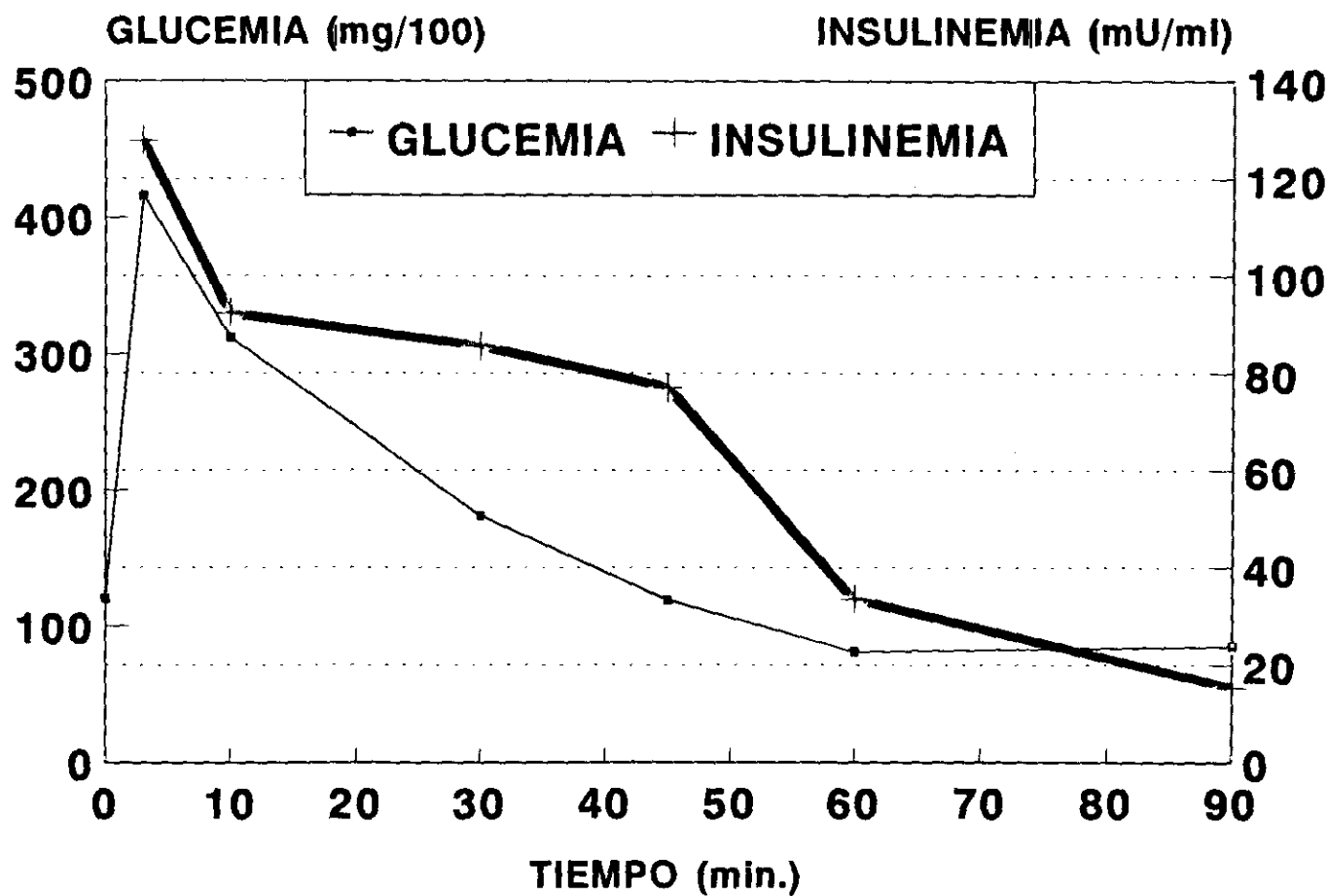


FIG. XV

#### IV.3.2.2. Efecto del SMS 201-995 sobre los parámetros bioquímicos de pancreatitis del injerto.

- Las cifras basales medias de amilasemia preop., de  $5.700 \pm 1.950$  UI/L, subieron hasta 6 ó 7 veces su valor, con un valor medio de  $34.200 \pm 23.000$  UI/L en el 1er día postop., en los 26 animales con injerto funcionando las primeras 48 horas.

En los 3 no funcionantes, la amilasemia media fue de  $59.000 \pm 19.000$  UI/L el 1er día postop.

Si comparamos la evolución de la amilasemia entre los grupos sin SMS(I y IV) y con SMS(II y III) vemos que no hubo diferencias, normalizándose en todos a partir del 5º-6º días postop. (Fig. XVI)

(N.B.: Las cifras de Lipasa no han sido valoradas por no existir datos suficientes).

- Las cifras de calcemia tampoco sufrieron variaciones significativas entre grupos, siendo los valores basales medios preop. y los postop. al sacrificio los siguientes:

- basal preop.:.....  $9.2 \pm 1.9$  mg/100c

- al sacrificio :

Grupo I                    ...  $8.5 \pm 2$

Grupos II + III ...  $8.7 \pm 0.8$

Grupo IV                    ...  $9.1 \pm 0.6$

El hematocrito tampoco sufrió alteraciones significativas entre grupos:

- basal preop.:.....  $49 \pm 15$  %

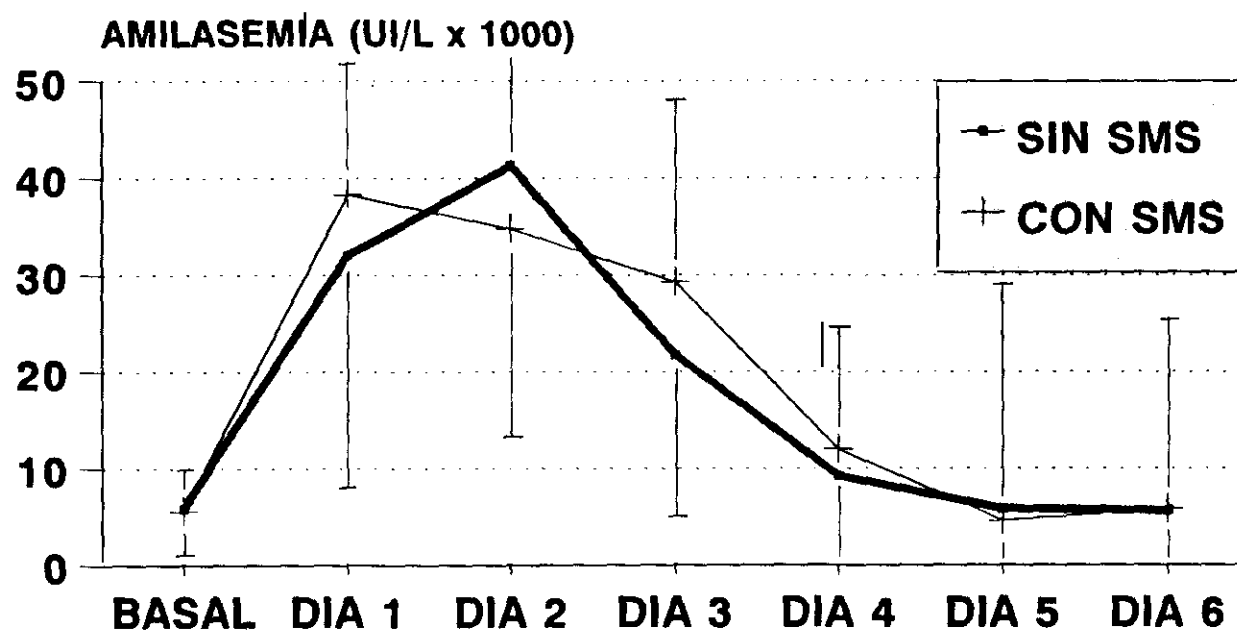
- al sacrificio :

Grupo I                    ...  $33 \pm 5$

Grupos II + III ...  $42 \pm 12$

Grupo IV                    ...  $35 \pm 3$

# EFECTO DEL SMS 201-995 SOBRE LA AMILASEMIA (N=21)



	BASAL	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6
SIN SMS	5,8	32	41,3	21,7	9,2	5,8	5,6
CON SMS	5,6	38,3	34,8	29,3	12	4,6	5,8

DIAS POSTTRASPLANTE

FIG. XVI

#### IV.3.3. RESULTADOS DE LA VALORACION MACROSCOPICA DURANTE EL SACRIFICIO: COMPLICACIONES SEPTICAS Y PANCREATITIS

La Tabla V resume las complicaciones sépticas encontradas. En 9 (42.8%) de los 21 animales trasplantados válidos se evidenció la presencia de sepsis intraabdominal en forma de peritonitis y/o abscesos (Fig. 17).

Hubo una peritonitis más ó menos generalizada en 3 animales, comprobándose en al menos 2 de ellos una dehiscencia clara de la anastomosis P-Y.

En una mayoría de animales fue muy difícil valorar con certeza el estado de esta anastomosis, debido al gran componente inflamatorio periinjerto existente, aunque en algunos casos se consiguió la extracción del bloque pancreatoyeyunal intacto (Fig. 18).

Ni la administración de SMS 201-995 (en los Grupos II y III) ni el refuerzo de la anastomosis P-Y con el ABF (Grupo III) redujeron de forma significativa la presencia de complicaciones sépticas respecto al grupo control; sí lo hizo, de manera clara, la "intestinalización" del injerto (Grupo IV), observándose sólo un absceso y ninguna peritonitis en los 5 animales valorables de este grupo.

# SEPSIS INTRAABDOMINAL

<u>GRUPOS</u>	<u>N</u>	<u>PERITONITIS</u>	<u>ABSCESOS</u>
I (CONTROL)	5	2	1 3/5 (60%)
II (SMS 201-995)	6	1	2 3/6 (50%)
III (SMS 201-995+ABF)	5	0	2 2/5 (40%)
IV (INTESTINALIZAC.)	5	0	1 1/5 (20%)
	----	----	-----
	21	3	6 9/21

(I con II :  $z=0.3315$  p N.S.)

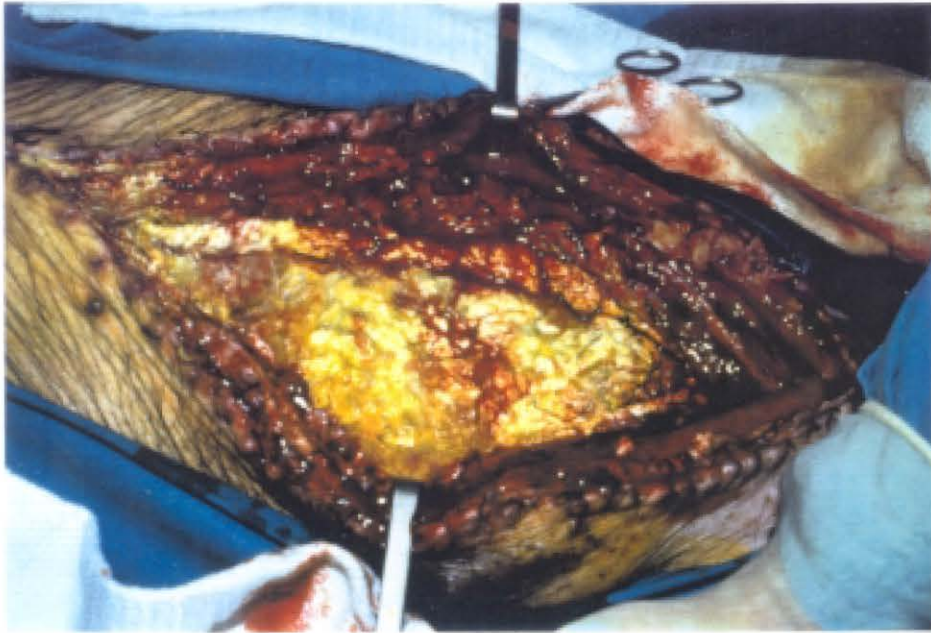
(I con III :  $z=0.6650$  p N.S.)

(I con IV :  $z=1.291$  p N.S.)

**TABLA V**

FIG. 17 - GRUPO CONTROL. ANIMAL SACRIFICADO AL 10º DIA POST-  
TRASPLANTE, ENCONTRANDOSE UNA PERITONITIS GENERALIZADA  
Y GRANDES ZONAS DE ESTEATONECROSIS





Los gérmenes cultivados evidenciaron todos un origen intestinal:

AEROBIOS	ANAEROBIOS
E. coli	Bifidobacterium spp.
Enterobacter cloacae	Clostridium paraputrificum
Enterococcus : faecalis	Bacteroides : sp.
durans	denticola
Klebsiella : oxytoca	Peptostreptococcus micros.
pneumoniae	
Proteus mirabilis	
Morganella morganii	

Según la Escala de Graduación establecida en la valoración macroscópica de la gravedad de la Pancreatitis del injerto, observamos (Tabla VI) que en los tres primeros grupos fue muy similar, y de alrededor del 40% de la puntuación máxima posible, evidenciando el nulo efecto del SMS 201-995 en la profilaxis de esta pancreatitis del injerto.

Por el contrario, los injertos "intestinalizados" mostraron una ausencia casi completa de colecciones y de necrosis periinjerto (Tabla VII), con una graduación mucho menor. Incluso el animal con el injerto rechazado y, por tanto, no incluido en esta valoración macroscópica, presentaba una cavidad abdominal completamente "limpia", sin tejidos necróticos periinjerto ni colecciones líquidas (Fig. 19).

## SEVERIDAD DE LA PANCREATITIS DEL INJERTO GRADUACION MACROSCOPICA

<u>GRUPOS</u>	Nº	PUNTUACION	<u>PUNT. MAX. POSIBLE</u>
I (CONTROL)	5	14/35	40 %
II (SMS 201-995)	6	17/42	40.5%
III(SMS 201-995+ABF)	5	15/35	42.8%
IV (INTESTINALIZAC.)	5	5/28	17.8%

(I con II :  $z=0$  p N.S.)

(I con III :  $z=0.2727$  p N.S.)

(I con IV :  $z=0.9635$  p N.S.)

**TABLA VI**

# SEVERIDAD DE LA PANCREATITIS DEL INJERTO

## PUNTUACION MACROSCOPICA

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV
	N=5	N=6	N=5	N=4
<b>COLECCIONES PERIINJERTO</b>	2 2 0 2 0 (6/10)	1 2 0 1 2 0 (6/12)	0 0 1 2 1 (4/10)	- 0 0 0 1 (1/8)
<b>NECROSIS PERIINJERTO</b>	1 2 0 0 0 (3/10)	1 1 0 1 1 0 (4/12)	1 1 1 1 2 (6/10)	- 0 0 0 0 (0/8)
<b>CORTES MACROSCOPICOS</b>	1 2 0 1 1 (5/15)	2 3 1 0 1 0 (7/18)	1 0 1 2 1 (5/15)	- 0 1 2 1 (4/8)
	(14/35)	(17/42)	(15/35)	(5/28)

**TABLA VII**

### Colecciones peripancreáticas.

En 11 de los 21 animales se evidenciaron colecciones periinjerto no purulentas (Fig. 20).

Ateniéndonos a los diferentes grupos (tabla VII), se encontraron colecciones en 3 de los 5 aloinjertos del grupo I, en 7 de los 11 animales de los dos grupos tratados con SMS 201-995, y sólo en uno de los 5 aloinjertos "intestinalizados".

Si nos atenemos al volumen y contenido en amilasa de esas colecciones peripancreáticas (Fig. XVII y Tabla VIII), observamos que en los grupos tratados con SMS 201-995 se redujo ese volumen a la mitad, en relación al grupo control, mientras que el contenido en amilasa de esas colecciones no varió casi nada .

### Necrosis perinjerto (Fig. 21).

Sólo existió (Tabla VII) en 2 de los 5 animales del grupo control, por 9 de los 11 animales tratados con SMS 201-995 ( $p < 0.10$ ), no existiendo en ninguno de los animales del Grupo IV ( $p < 0.10$ ).

### Aspecto macroscópico al corte.

Hubo edema, focos de hemorragia y/o focos de necrosis al corte en 16 (76%) de los 21 animales, no existiendo diferencias apreciables entre el grupo control y los tratados con SMS 201-995 ó el Grpo IV (Fig. 22 y 23).

Cuatro de los cinco injertos válidos del grupo IV aparecían bien "intestinalizados" (Fig. 24), incluyendo el injerto rechazado (Fig. 25).

# COLECCIONES PERIPANCREATICAS VOLUMEN Y AMILASA

VOLUMEN (cc.) y AMILASA (UI/L x 10)

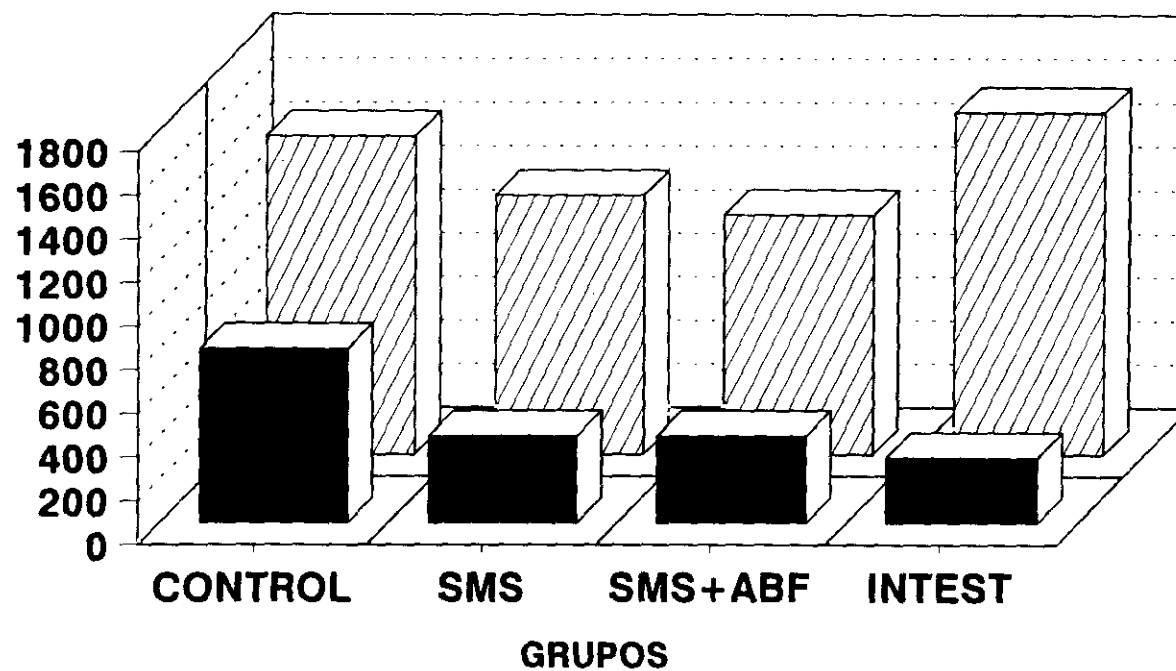


FIG. XVII

■ VOLUMEN    ▨ AMILASA

## COLECCIONES PERIPANCREATICAS NO PURULENTAS

<u>GRUPOS</u>	Nº	VOLUMEN (cc)	AMILASA (UI/L)
<b>I (CONTROL)</b>	<b>3/5</b>	<b>800 +/- 80</b>	<b>14600 +/- 9135</b>
<b>II (SMS 201-995)</b>	<b>4/6</b>	<b>400 +/- 310</b>	<b>11900 +/- 6500</b>
<b>III(SMS 201-995+ABF)</b>	<b>3/5</b>	<b>400 +/- 260</b>	<b>11000 +/- 3260</b>
<b>IV (INTESTINALIZAC.)</b>	<b>1/5</b>	<b>300</b>	<b>15700</b>

(I con II+III :  $z=0.1528$  p N.S.)

(I con IV :  $z=1.3333$  p<0.20)

(IV con II+III :  $z=1.6923$  p<0.10)

**TABLA VIII**

FIG. 18 - GRUPO CONTROL. EXTRACCION COMPLETA DEL BLOQUE PAN-  
CREATO-YEYUNAL INTACTO DURANTE EL SACRIFICIO

FIG. 19 - GRUPO IV - INJERTO RECHAZADO AL 10º DIA. SE APRECIA  
PERFECTAMENTE INTESTINALIZADO, EXISTIENDO UNA AUSEN  
CIA COMPLETA DE COLECCIONES Y NECROSIS PERI-INJERTO



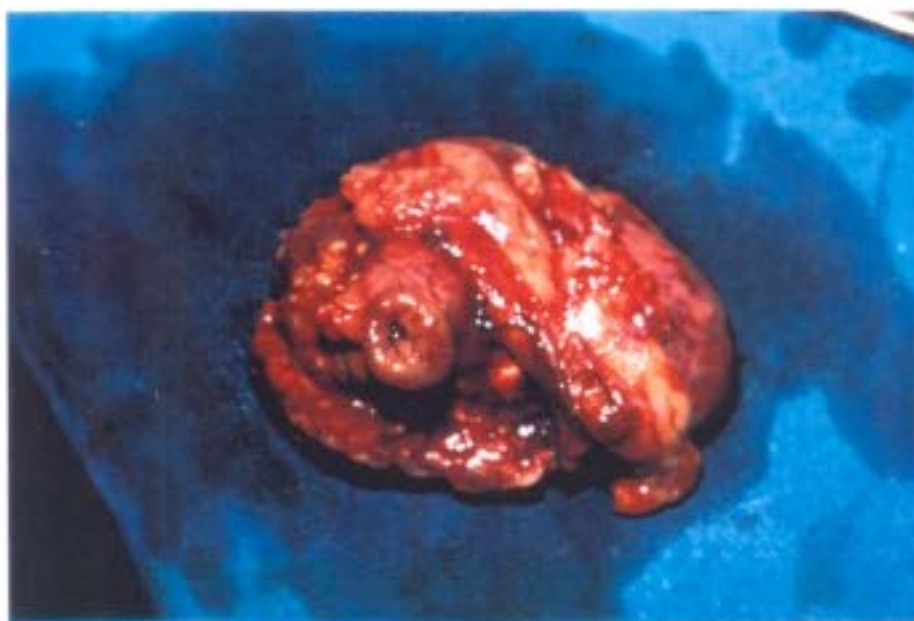


FIG. 20 - GRUPO II - COLECCION PERIINJERTO NO PURULENTA ( ➡ )

FIG. 21 - GRUPO III - PANCREATITIS SEVERA CON ZONAS DE NECROSIS  
PERIINJERTO

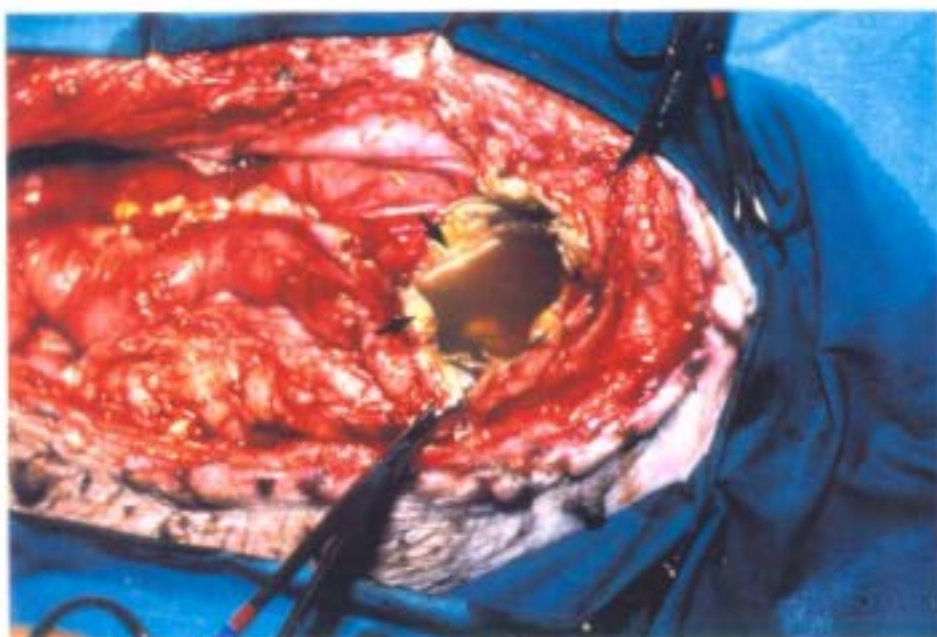


FIG. 22 - GRUPO CONTROL. SE APRECIA MACROSCOPICAMENTE, ZONAS  
DE HEMORRAGIA Y NECROSIS DEL PARENQUIMA

FIG. 23 - GRUPO III. EDEMA Y ZONA DE NECROSIS AL CORTE DEL PA-  
RENQUIMA

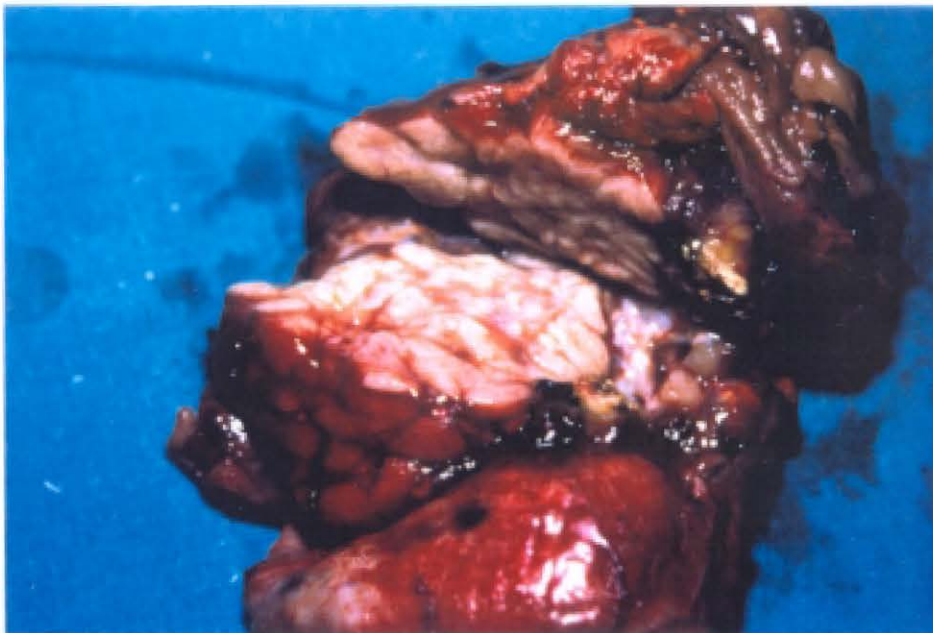



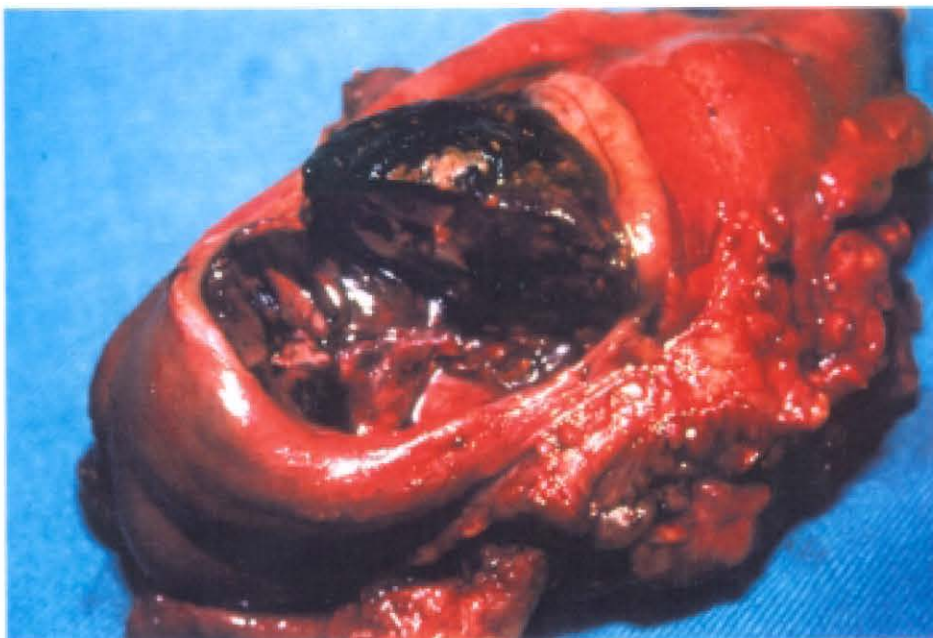
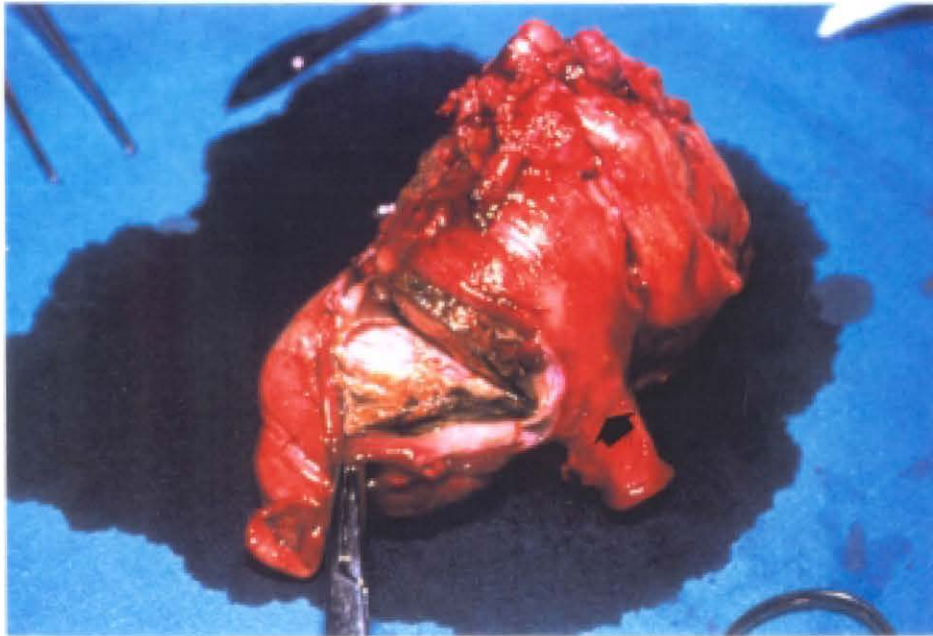
FIG. 24 - GRUPO IV. INJERTO BIEN "INTESTINALIZADO" Y CON BUEN ASPECTO AL CORTE. SE OBSERVA LA ANASTOMOSIS YEYUNO-CECAL  
(  )

FIG. 25 - GRUPO IV. INJERTO DE LA FIG. 19, EN EL QUE SE APRECIA LA PERFECTA "INTESTINALIZACION" ASI COMO EL RECHAZO / DEL MISMO





#### IV.3.4. ESTUDIO HISTOLOGICO

La Tabla IX refleja la graduación histológica global de los diferentes grupos, en base a la escala de valoración establecida.

En la Tabla X se recoge la graduación histológica de la severidad de la pancreatitis, observando que todos los grupos presentaron un grado de pancreatitis moderada. No existieron diferencias significativas (p N.S.) entre el grupo control y los tratados con SMS 201-995 ó el grupo con injerto intestinalizado.

Asimismo, no existieron diferencias significativas (p N.S.) en los parámetros histológicos de pancreatitis (Tabla XI), entre el grupo control y los tratados con SMS 201-995; se apreció, sin embargo, menos necrosis enzimática (p N.S.) y menos fibrosis ( $p < 0.20$ ) en el grupo IV respecto del grupo control.

El grado de rechazo histológico, si excluimos el injerto rechazado del grupo IV, fue leve y muy similar en todos los grupos (Tabla XII).

Existió un rechazo severo en 4 (13.7%) de los 29 animales evaluables del Ensayo 2, dejando 3 de ellos de funcionar antes del 10º día postrasplante. En el resto de los animales con injerto funcional:

- 3 sufren un rechazo mínimo (1/12 puntos posibles)
- 13 sufren un rechazo leve (2-5/12 puntos posibles)
- 4 sufren un rechazo moderado (6/12 puntos posibles).

En la Tabla XIII se aprecia que existió un claro predominio de infiltrados celulares con muy escasa presencia de endotelitis y vasculitis, similar en todos los grupos.



# **PANCREATITIS Y RECHAZO**

## **GRADUACION HISTOLOGICA**

### **PANCREATITIS**

**NECROSIS ENZIMATICA**

**PROLIFERACION FIBROBL.**

**FIBROSIS**

### **RECHAZO**

**INFILTRADOS CELULARES**

**ENDOTELITIS**

**VASCULITIS**

**NECROSIS COAGULACION**

GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV
N=5	N=6	N=5	N=4
1 3 1 2 1	1 2 2 3 2	1 1 2 3 1	- 1 1 1 1
1 1 1 2 1	2 2 1 1 2 1	1 1 1 1 1	- 1 1 2 2
2 1 1 2 3	1 2 1 2 2 1	2 2 1 2 1	- 1 1 1 1
2 1 0 3 1	2 1 2 2 1 1	1 1 1 1 1	- 1 2 2 1
1 0 0 1 0	1 1 0 0 0 0	0 0 1 0 0	- 0 1 1 0
1 1 0 1 1	2 0 1 1 1 1	0 1 1 0 0	- 0 2 0 0
1 1 1 1 1	1 0 2 1 1 1	1 0 0 2 0	- 1 1 1 0
(41/105)	(53/126)	(32/105)	(27/84)
(39%)	(42%)	(30%)	(32%)

**TABLA IX**

## PANCREATITIS

### GRADUACION HISTOLOGICA

<b>GRUPO I</b>	$4/9 + 5/9 + 3/9 + 6/9 + 5/9 = 23/45$ <p style="text-align: center;">(51% del máximo posible)</p> <p>(23/5 = 4.4 de puntuación media) : Pancreatitis Moderada</p>
<b>GRUPO II</b>	$4/9 + 6/9 + 4/9 + 5/9 + 7/9 + 4/9 = 30/54$ <p style="text-align: center;">(55.5% del máximo posible)</p> <p>(30/6 = 5 de puntuación media) : Pancreatitis Moderada</p>
<b>GRUPO III</b>	$4/9 + 4/9 + 4/9 + 6/9 + 3/9 = 21/45$ <p style="text-align: center;">(46.6% del máximo posible)</p> <p>(21/5 = 4.2 de puntuación media) : Pancreatitis Moderada</p>
<b>GRUPO IV</b>	$3/9 + 3/9 + 4/9 + 4/9 = 14/36$ <p style="text-align: center;">(39% del máximo posible)</p> <p>(14/4 = 3.5 de puntuación media) : Pancreatitis Moderada</p>

**TABLA X**

# **PANCREATITIS**

## **PARAMETROS HISTOLOGICOS**

	<b>GRUPOS</b>		
	<b>I (n=5)</b>	<b>II+III (n=11)</b>	<b>IV (n=5)</b>
<b>NECROSIS ENZIMATICA</b>	<b>8/15 (53%)</b>	<b>20/33 (60.6%)</b>	<b>4/12 (33%)</b>
<b>PROLIFERACION FIBROBL.</b>	<b>6/15 (40%)</b>	<b>14/33 (42.5%)</b>	<b>6/12 (50%)</b>
<b>FIBROSIS</b>	<b>9/15 (60%)</b>	<b>17/33 (51.5%)</b>	<b>4/12 (33%)</b>

**TABLA XI**

## RECHAZO

### GRADUACION HISTOLOGICA

<b>GRUPO I</b>	$5/12 + 3/12 + 1/12 + 6/12 + 3/12 = 18/60$ <p>(30% del máximo posible) (18/5 = 3.6 de puntuación media) : Rechazo Leve</p>
<b>GRUPO II</b>	$6/12 + 2/12 + 5/12 + 4/12 + 3/12 + 3/12 = 23/72$ <p>(32% del máximo posible) (23/6 = 3.8 de puntuación media) : Rechazo Leve</p>
<b>GRUPO III</b>	$2/12 + 2/12 + 3/12 + 3/12 + 1/12 = 11/60$ <p>(18% del máximo posible) (11/5 = 2.2 de puntuación media) : Rechazo Leve</p>
<b>GRUPO IV</b>	$2/12 + 6/12 + 4/12 + 1/12 = 13/48$ <p>(27% del máximo posible) (13/4 = 3.2 de puntuación media) : Rechazo Leve</p>

**TABLA XII**

# RECHAZO

## PARAMETROS HISTOLOGICOS

	GRUPOS		
	I (n=5)	II+III (n=11)	IV (n=5)
<b>INFILTRADOS CELULARES</b>	7/15 (46.6%)	14/33 (42.5%)	6/12 (50%)
<b>ENDOTELITIS</b>	2/15 (13%)	3/33 (9%)	2/12 (17%)
<b>VASCULITIS</b>	4/15 (27%)	8/33 (24%)	2/12 (17%)
<b>NECROSIS COAGULACION</b>	5/15 (33.3%)	9/33 (27%)	3/12 (25%)

**TABLA XIII**

En algunos injertos fue difícil ó imposible el diferenciar entre rechazo masivo y trombosis venosa, al observarse sólo áreas de necrosis hemorrágica difusa con borramiento de las estructuras pancreáticas (Fig. 26).

La endovasculitis fue un hallazgo infrecuente y de poca intensidad en los aloinjertos funcionantes (Fig. 27 y 28).

Asímismo, la presencia de infiltrados inflamatorios crónicos alrededor de los conductos excretores fue un hallazgo infrecuente (Fig. 29 y 30).

Un grado moderado de necrosis enzimática y de fibrosis, como datos inespecíficos de pancreatitis, fue evidente en una mayoría de aloinjertos (Fig. 31 y 32).

El estudio histológico a nivel de las anastomosis pancreatoyeyunales no complicadas evidenció una mucosa bien preservada y con discretos fenómenos inflamatorios (Fig. 33), no apreciándose restos del ABF en la serosa intestinal en los animales del grupo III.

En los animales del grupo IV la "bolsa" cecal aparecía histológicamente bien preservada, con moderados infiltrados inflamatorios (Fig. 34).

FIG. 26 - AREA DE NECROSIS HEMORRAGICA DIFUSA DEL PARENQUIMA  
PANCREATICO CON UN BORRAMIENTO TOTAL DE TODAS LAS  
ESTRUCTURAS (TROMBOSIS VENOSA MASIVA) (HE 40X)





FIG. 27 - AREA DE PERDIDA DE LA ARQUITECTURA PANCREATICA, QUE APARECE SUSTITUIDA POR UN TEJIDO CONJUNTIVO EDEMATOSO CON FOCOS DE NECROSIS QUIMICA. SE OBSERVA ASIMISMO UN VASO ARTERIAL CON INFILTRADO INFLAMATORIO ACUSADO QUE AFECTA A LA PARED DEL VASO (VASCULITIS) (HE 40X)

FIG. 28 - DETALLE DE LAS LESIONES DE VASCULITIS DE LA FIGURA ANTERIOR ( HE 100X)

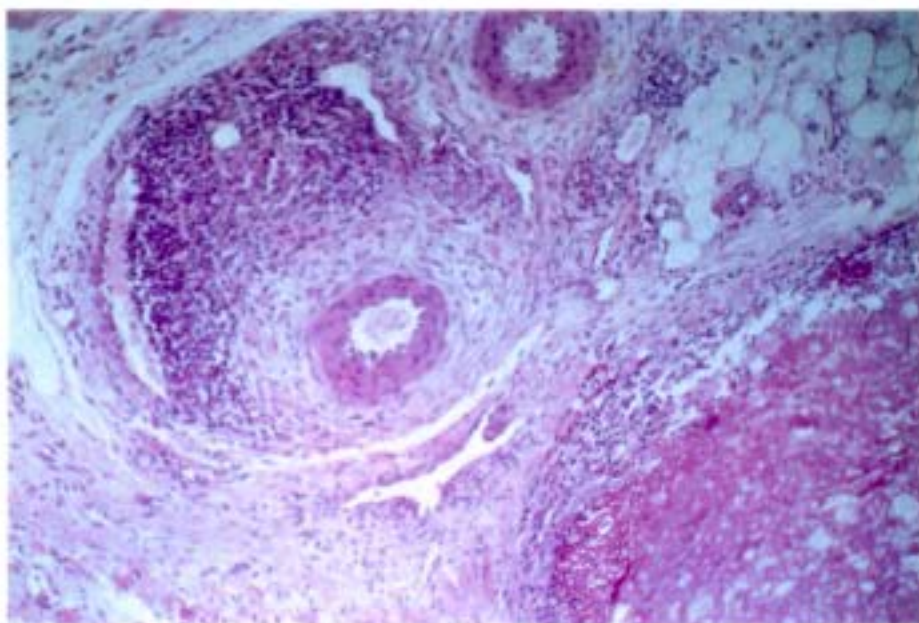
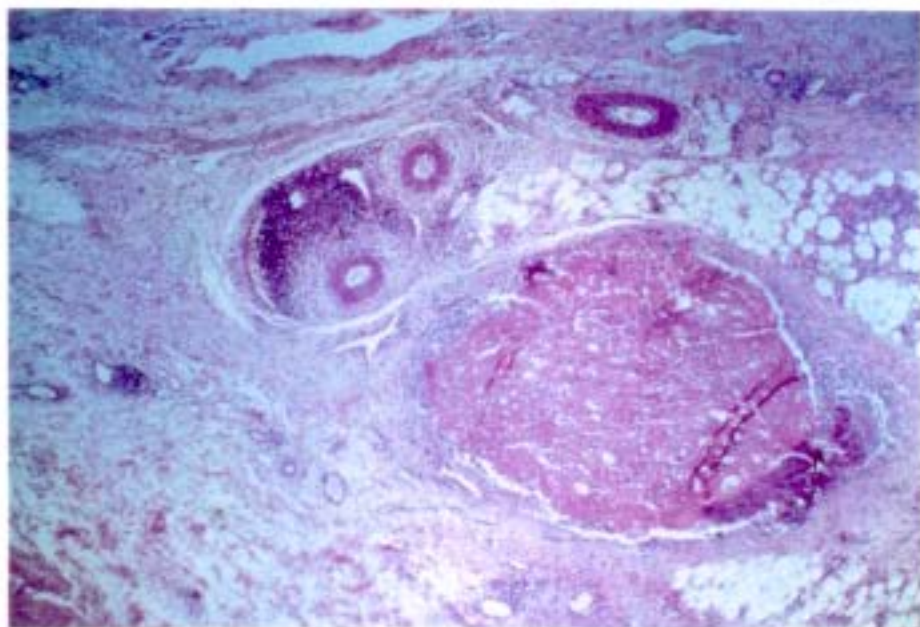


FIG. 29 - CONDUCTO EXCRETOR PANCREATICO QUE MUESTRA UN EPITELIO CILINDRICO PRESERVADO, Y EN LA PERIFERIA UN INFILTRADO INFLAMATORIO CRONICO FORMADO POR LINFOCITOS, CELULAS PLASMATICAS Y ALGUN NEUTROFILO AISLADO (HE 120X)

FIG. 30 - PARENQUIMA PANCREATICO PRESERVADO CON INFILTRADOS INFLAMATORIOS CRONICOS INTERSTICIALES MAS EVIDENTE EN LA PERIFERIA DE UN CONDUCTO EXCRETOR (HE 200X)

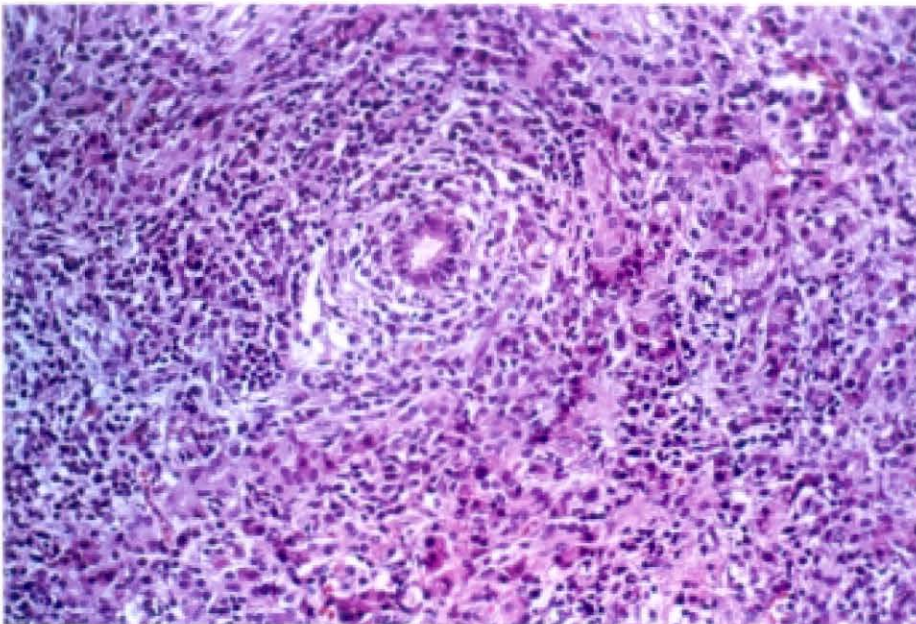
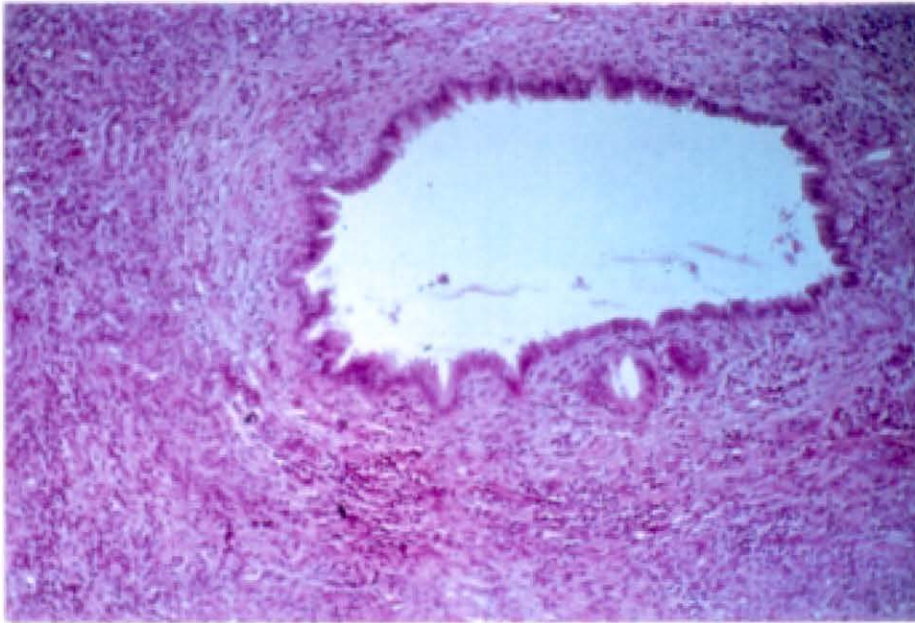


FIG. 31 - AREA DE NECROSIS QUIMICA Y ACUSADO INFILTRADO INFLAM  
MATORIO FORMADO POR LINFOCITOS, HISTIOCIITOS, CELU -  
LAS PLASMATICAS Y GRUPOS DE PMN (HE 100X)

FIG. 32 - SE OBSERVAN AREAS DE PARENQUIMA BIEN PRESERVADO JUNTO  
A ZONAS DE INTENSA FIBROSIS CON INFILTRADOS INFLAMATOR  
RIOS CRONICOS Y RESTOS DE PARENQUIMIA NECROSADO  
(HE 120X)



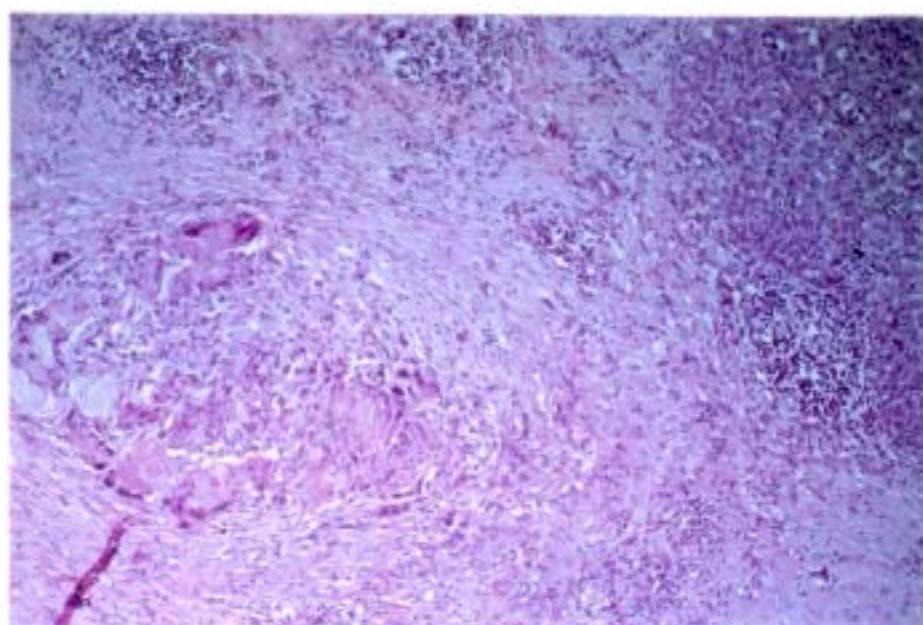
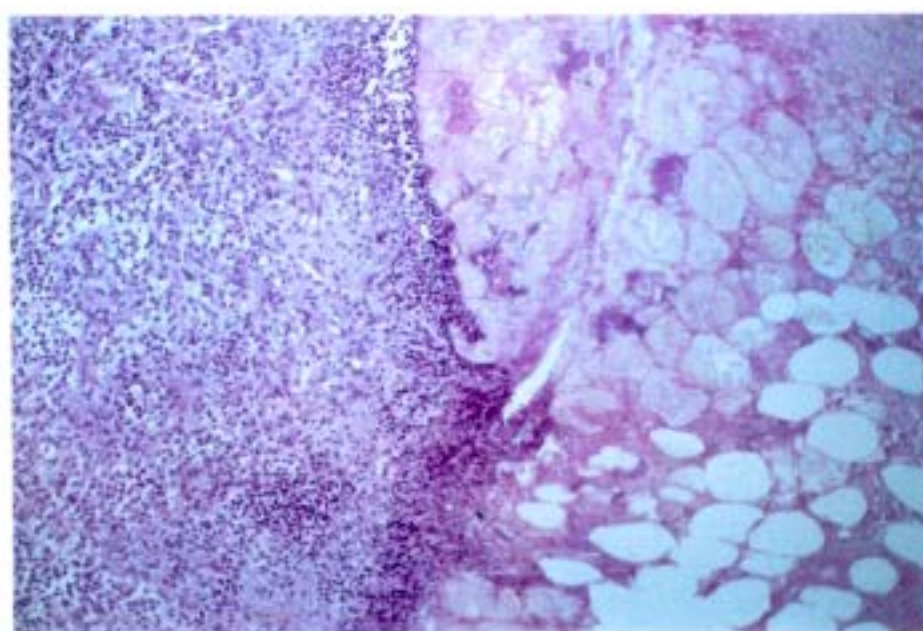
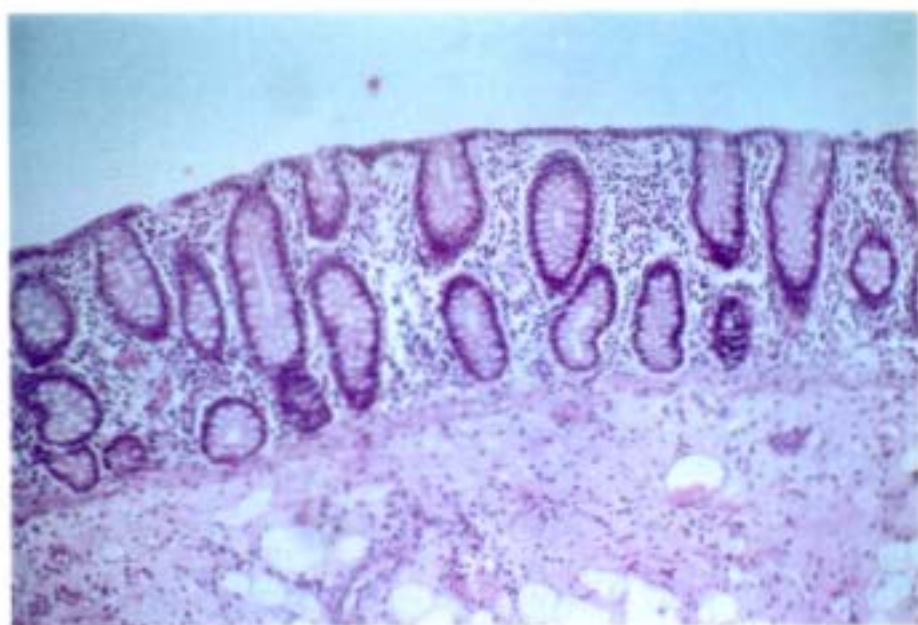
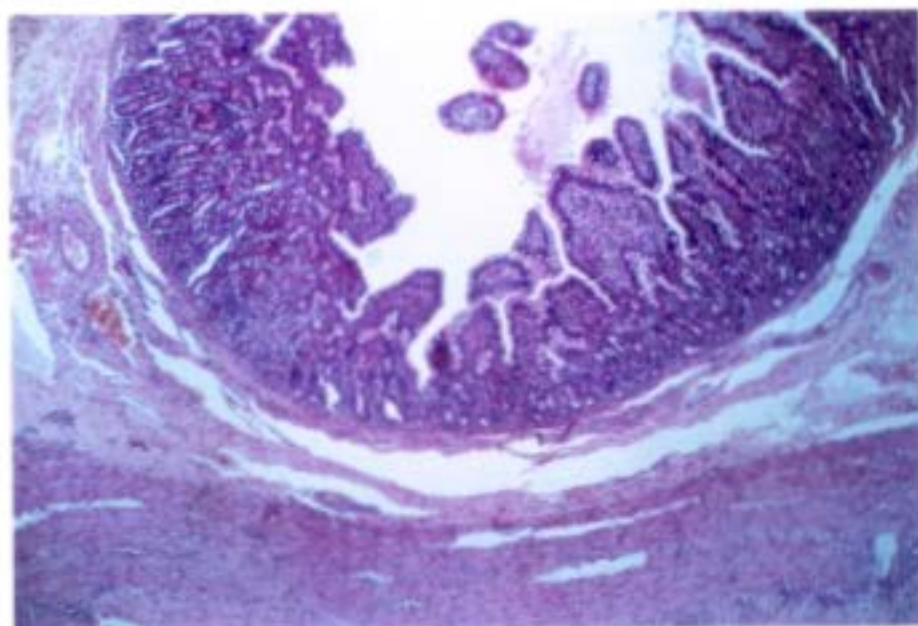


FIG. 33 - ANASTOMOSIS PANCREATO-YEYUNAL. SE OBSERVA UNA MUCOSA PRESERVADA CON DISCRETO APLANAMIENTO DE LAS VELLOSIDADES Y UN INFILTRADO INFLAMATORIO LEVE A NIVEL DE / LAMINA PROPIA (HE 40X)

FIG. 34 - "BOLSA CECAL". SE OBSERVA LA PARED DEL CIEGO BIEN PRESERVADA CON EDEMA DE LA SUBMUCOSA Y MODERADOS INFILTRADOS INFLAMATORIOS CRONICOS INESPECIFICOS A NIVEL DE LA LAMINA PROPIA (HE 40X)





## V. DISCUSSION

La diabetes mellitus inducida por pancreatectomía total es uniformemente letal en el cerdo en 10 a 14 días (Sells y cols., 1972; Kiviluoto, 1985; Grace y cols., 1982; Morel y cols., 1991c). Nuestros resultados así lo han confirmado en los 8 animales que superaron el período postoperatorio inmediato, falleciendo el de máxima supervivencia al final de la segunda semana postop.

En la práctica totalidad de los trabajos realizados sobre trasplante pancreático en este modelo animal se crea el estado diabético mediante la pancreatectomía total del receptor, debido a los efectos secundarios tóxicos y a la inestabilidad de la diabetes inducida con estreptozotocina. Zimmermann y cols. (1987) y Nicholson y cols. (1991) constituyen excepción, al inducir la diabetes mediante este fármaco.

A pesar de las dificultades encontradas en el mantenimiento de los catéteres i.v. centrales en los primeros animales, nos ha sido posible obtener unos perfiles bioquímicos completos diarios, en algunos de ellos, que concuerdan con los referidos en la literatura y han servido de control para la valoración posterior del funcionamiento del injerto en los animales trasplantados.

Así, los valores medios de glucemia postpancreatectomía ascienden a unas cifras 2'5 veces superiores a las basales, con un rango de dispersión grande en los primeros días, manteniéndose esas cifras con pocas variaciones hasta el fallecimiento del animal.

Las cifras de amilasemia se han determinado por el método colorimétrico, encontrando unos valores muy elevados en relación a la clínica humana.

## **V.1. MODELO DE AUTOINJERTO SEGMENTARIO. ¿ES FACTIBLE EL MODELO DE AUTOINJERTO PANCREATICO EN EL CERDO?**

Como se ha comentado en la Introducción, los modelos de Autoinjerto pancreático en animales grandes son muy útiles para el estudio de toda una serie de aspectos fisiológicos ó técnicos del trasplante, sin las variables introducidas por el rechazo inmunológico. El manejo postoperatorio del animal es mucho más sencillo y puede prolongarse en el tiempo.

Desde que Mitchell y cols. (1966) publicaron sus primeros Autoinjertos pancreáticos en perros, este ha sido invariablemente el animal grande empleado para el Autoinjerto, a excepción de algunos trabajos en el primate (Du Toit y cols., 1981; Du Toit y cols., 1983).

En 1976 Kyriakides y cols. (1976a) publican el primer y único trabajo sobre Autoinjerto pancreático en el cerdo, no existiendo más referencias en la literatura hasta 1987 (Traverso y cols., 1987a); esto contrastaba notablemente con los numerosos trabajos sobre Aloinjerto pancreático en este modelo animal (Kyriakides y cols., 1976b; Kyriakides y cols., 1979a y 1979c; Wayand y cols., 1980; Grace y cols., 1982; Schweizer y cols., 1984; Dafoe y cols., 1985; Koyama y cols., 1986; Borgström y cols., 1986; Gänger y cols., 1987a y 1987b) y con la extensa literatura sobre Autoinjerto en el perro, publicados hasta entonces (Ashikari y cols., 1968; Rausis y cols., 1970; Dickerman y cols., 1975; Toledo-Pereyra y cols., 1979; Baumgartner y cols., 1980; Du Toit y cols., 1981; Florack y cols., 1983; Helling y cols., 1983; Cutfield y cols., 1984; Vanek y cols., 1984; Liu y cols., 1985; Duron y cols., 1986; Tejero Cebrián y cols., 1986).

Debido a la creciente disponibilidad del cerdo como animal grande de experimentación, en detrimento del perro, y a las indudables ventajas anatómicas, ya mencionadas, del páncreas porcino sobre el canino, resultaba interesante, y extraño a la vez, la nula difusión del modelo de Autoinjerto pancreático en el cerdo, propuesto por Kyriakides y cols. (1976a).

A este interés contribuyeron los resultados negativos publicados en 1987 por Traverso y MacFarlane (1987a) en su intento de desarrollar un modelo de AutoxP en cerdos. Estos autores, desconociendo el trabajo previo de Kyriakides y cols. (1976a), y basados en estudios de anatomía vascular del páncreas porcino que afirmaban la existencia de arterias pancreáticas provenientes de la esplénica (Getty, 1975; Skjennald, 1982), intentan sin resultado el desarrollo del modelo. Encuentran que en más de la mitad de sus 16 animales la(s) arteria(s) pancreática(s) que irriga cuerpo y cola proviene de la arteria hepática, variante anatómica que, sin embargo, no es mencionada por Skjennald en su revisión de la anatomía vascular del páncreas (en relación a un estudio angiográfico y hemodinámico en un modelo de pancreatitis aguda en el cerdo doméstico).

Este origen vascular hepático de la arteria del injerto les obliga a la sección y reanastomosis de la arteria hepática común (AHC), procedimiento que encuentran muy tedioso y con gran predisposición a la trombosis. En los casos en que la arteria pancreática sale de la esplénica, encuentran que lo hace prácticamente del origen de dicha arteria en su salida del tronco celíaco, lo que hace la anastomosis de la arteria esplénica proximal técnicamente difícil ó imposible.

Concluyen estos autores afirmando que el modelo porcino de AutoxP no es técnicamente realizable.

En la técnica descrita por Kyriakides y cols. (1976a) se seccionaba sistemáticamente el tronco celiaco (TC) en los 69 animales de su serie, aislaban el injerto segmentario con su pedículo arterial y reanastomosaban el muñón del TC con la arteria hepática distal para restablecer el flujo vascular hepático. El pedículo arterial del AutoxP incluía, pues, tronco celiaco distal con la arteria esplénica y la arteria hepática proximal.

Estos autores no hacen mención del origen preciso de la(s) arteria(s) pancreática(s) en su serie, aunque resulta evidente que necesitaban algo más que la arteria esplénica para mantener la viabilidad del AutoxP; de no ser así, su técnica debería haber sido mucho más sencilla y similar a la del AutoxP en el perro. Tampoco hacen mención de la necrosis hepática como causa de muerte postoperatoria.

Zimmermann y cols. publican, también en 1987, el 3er trabajo hasta entonces aparecido en la literatura sobre AutoxP en cerdos. Tampoco hacen mención del trabajo de Kyriakides, y sus hallazgos en cuanto a la anatomía vascular son totalmente superponibles a los de los grupos anteriores. Encuentran también que en un 70% de sus 15 animales la arteria pancreática del cuerpo-cola proviene de la AHC; en esos casos, un segmento de esta AHC debe mantener la viabilidad del AutoxP, y restablecen el flujo hepático mediante un by-pass arterial esplenohepático. No hacen mención del tiempo consumido en esta anastomosis vascular ni de posibles trombosis de la misma con necrosis hepática consecuente.

En claro contraste con los hallazgos anatómicos de estos tres grupos, y con los de nuestra propia serie, un grupo danés (Shokouh-Amiri y cols., 1989) publica recientemente sus resultados en una serie de 41 cerdos. En sólo 6 animales (14.5%) la arteria pancreática del cuerpo-cola procedía de la AHC, mientras que en la mayoría, 29 animales (71%), procedía de la arteria esplénica. En vista de estas condiciones anatómicas favorables, no es de extrañar que estos autores consideren este modelo animal de AutoxP perfectamente factible; aún así, hacen la salvedad de las frecuentes variaciones anatómicas encontradas y de la necesidad de realizar con frecuencia procedimientos quirúrgicos vasculares en el injerto ex-vivo.

A pesar de esto, refieren un tiempo de isquemia entre 40 y 70 minutos, y, además, lejos de encontrar un inconveniente en esta variabilidad anatómica, consideran que es un buen ejercicio técnico para el trasplante clínico, especialmente en el uso simultáneo de varios órganos de un mismo donante.

El punto discordante sigue estando, sin embargo, en el alto porcentaje de situaciones anatómicas favorables (es decir, arteria pancreática proveniente de la esplénica) que encuentran en sus animales, frente a los hallazgos radicalmente distintos de las otras tres series publicadas, y de la nuestra propia (Turégano Fuentes y cols., 1990).

Para añadir más controversia al tema, el grupo de Minnesota publica muy recientemente un estudio de pancreatometomía total, para trasplante de islotes, en 49 cerdos de la raza Yorkshire, encontrando también una vascularización a partir de la arteria esplénica en una mayoría de animales (Morel y cols., 1991c).

Shokouh-Amiri y cols.(1989) desconocen los trabajos de dos de los grupos previos mencionados, y sólo contrastan sus hallazgos con los de Traverso y MacFarlane(1987a), admitiendo la dificultad existente para explicar las diferencias anatómicas encontradas, aunque apuntan que quizás se trate de variedades distintas de cerdos.

En nuestra opinión esto parece poco probable al tratarse de la misma especie animal; además, todos ellos parecen haber empleado cerdos domésticos ó de granja.

En otro trabajo experimental en cerdos, del grupo de la John Hopkins (Koyama y cols., 1986), se confirma esta anatomía vascular. Aunque su modelo es de aloinjerto segmentario, pues estudian el problema del rechazo, hacen hincapié en que durante la extracción en el donante la disección del tronco celiaco es crítica; encuentran que una arteria pequeña, originada bien de la esplénica proximal ó de la AHC, era la única vascularización del cuerpo y cola del páncreas porcino. No refieren en qué porcentaje esta arteria salía de la esplénica ó de la AHC, pero incorporan al injerto 2.5 cm. de AHC.

Los mismos comentarios realiza un grupo canadiense en su estudio sobre aloinjertos pancreáticos en cerdos, refiriendo no poder estudiar el modelo de autoinjerto en este animal porque "se necesita el tronco celiaco, en lugar de la arteria esplénica, para asegurar la vascularización adecuada del cuerpo y cola del páncreas"; el restablecimiento de la vascularización hepática lo encuentran muy prolongado y tedioso (Grace y cols.,1982).

Nuestros pobres resultados en el montaje del modelo de AutoxP segmentario en el cerdo creemos que están directamente relacionados con

esta peculiar anatomía vascular del segmento corporocaudal pancreático en este animal; en esta afirmación coincidimos plenamente con la opinión de Traverso y MacFarlane, autores de dilatada experiencia en cirugía experimental en cerdos, con cerca de un millar de animales utilizados en modelos de shock hemorrágico y pancreatitis (Traverso y cols., 1987b).

El origen hepático de la vascularización corporocaudal del páncreas porcino en más de las 2/3 partes de los animales obliga a prolongar el tiempo operatorio con dificultosas técnicas de revascularización hepática; esto introduce importantes variables de índole técnica que hacen que los esfuerzos vayan dirigidos hacia asegurar la mera supervivencia del animal evitando la trombosis de la arteria hepática con necrosis consecuente del órgano, alejándonos del objetivo de nuestro trabajo que es la preservación del autoinjerto pancreático.

Esto explica la pobre supervivencia obtenida en los 15 animales del grupo I, en que hubo que seccionar la arteria hepática, y los mejores resultados obtenidos en el grupo II, con condiciones anatómicas favorables.

Esa alta mortalidad por fallo hepático en 6 casos fué confirmada por la clínica y analítica, y además en 3 casos por estudio necrópsico con confirmación de trombosis de la AHC. Los animales mostraron los rasgos clínicos del fallo hepático, con abatimiento letárgico, ausencia de gruñido espontáneo, incapacidad para ponerse de pié, ausencia de ingesta oral, falta de respuesta a estímulos dolorosos y coma pre-mortem (Harris y cols., 1982).

Es poco probable que, en algún caso, este fallo hepático fuera debido al periodo de clampaje prolongado de la AHC, pues ha sido demostrado con claridad que el hígado del cerdo puede tolerar periodos de isquemia



normotérmica de entre 2 y 3 horas sin desarrollar necrosis hepática masiva (Harris y cols., 1982; Nordlinger y cols., 1980) (teniendo en cuenta, además, que en nuestros animales se mantenía la perfusión portal, y estudios de flujo hepático en cerdos han sugerido que la AHC contribuye con un 40% del flujo total) (Tygstrup y cols., 1971; Skjennald, 1982).

Estudios experimentales de desarterialización hepática han demostrado que la interrupción permanente del flujo arterial hepático en el cerdo puede producir la muerte por necrosis hepática (Persson y cols., 1987).

Además, ha sido demostrado en perros, conejos, ratas y animales de experimentación en general, que la presencia de gérmenes anaerobios en la circulación esplácnica invariablemente produce la muerte por necrosis hepática séptica dentro de las 24 horas de la ligadura de la arteria hepática (Mays y cols., 1979).

Evidentemente se puede considerar, en la interpretación de estos pobres resultados, la influencia indudable que la obligada "curva de aprendizaje" de toda técnica quirúrgica tiene en los resultados finales. Aún reconociendo esto, hay que volver a resaltar los diferentes resultados obtenidos en los grupos I y II (en términos de supervivencia y funcionamiento del injerto), que no fueron grupos consecutivos en el tiempo, sino que la técnica quirúrgica debía adaptarse a la anatomía vascular encontrada en cada animal.

Todos los grupos con experiencia en AutoxP segmentarios en perros comentan el hallazgo frecuente de variaciones anatómicas vasculares que

pueden obligar a modificaciones en la técnica y/o a la práctica de técnicas reconstructoras sobre el injerto "ex-vivo" (cirugía "de banco"); igualmente, en algunas ocasiones, estas variantes anatómicas pueden obligar a renunciar a la realización del AutoxP.

Así, por ejemplo, Florack y cols.(1983) encuentran que la arteria pancreática proviene de la mesentérica superior (tipo III de su clasificación) en el 8.8% de los 240 perros estudiados; esto les obliga a extirpar ese segmento de arteria mesentérica superior (AMS) para poder efectuar el autoinjerto, con reconstrucción posterior de la AMS. De 8 perros con esta anomalía en los que se hizo AutoxP, 4 murieron de problemas intestinales ó trombosis de la AMS reconstruida, con injertos pancreáticos funcionantes.

La misma disposición arterial aberrante encuentra el grupo de Van Schilfgaarde y cols.(1983) en el 20% de sus 70 perros estudiados, debiendo hacer la misma modificación técnica. Ortega-Serrano y cols.(1990) la encuentran sólo en el 5% de sus 72 perros estudiados.

En cualquier caso, predomina claramente una disposición arterial "favorable" en la irrigación del páncreas izquierdo canino que hace "sencillo" su autoinjerto heterotópico y revascularización mediante anastomosis de los vasos esplénicos. Esto hace a este modelo animal de AutoxP "económicamente" rentable. Otro problema diferente es el bajo flujo de ese AutoxP y su frecuente trombosis, para evitar la cual se han ideado toda una serie de técnicas, algunas de las cuales han encontrado posterior aplicación en la clínica.

Sin embargo, en nuestro modelo de autoinjerto pancreático en el cerdo hemos encontrado esa disposición arterial "favorable" en sólo el 24% de los animales, frente a un 76% de casos "desfavorables". No hemos

encontrado en ningún caso la variante anatómica tipo III de la clasificación de Florack para el perro (aunque sí la vimos en 3 animales del grupo de aloinjertos).

Esta disposición anatómica desfavorable propició, en parte, el que 7 de nuestros animales hayan tenido que ser sacrificados intraoperatoriamente, y que la supervivencia superior a 48 horas que obtuvimos en los 16 animales evaluables fuera sólo del 62.5%, con un porcentaje de funcionamiento del autoinjerto del 25% (4 de 16 animales).

Las determinaciones bioquímicas y hormonales en los 4 animales con Autoinjerto funcionando contrastaron notablemente con las de los animales con necrosis del injerto (a excepción de las cifras de amilasa).

A la luz de nuestros resultados, compartimos con Traverso y MacFarlane (1988) la opinión de que el cerdo no es un animal adecuado para el montaje de un modelo de AutoxP segmentario. Las razones anatómicas comentadas, que obligan en una mayoría de casos a la introducción de variables de complejidad técnica, reducen la "rentabilidad económica" de este modelo a niveles muy bajos.

## V.2. EL PROBLEMA VASCULAR : MODELOS DE AUTO- Y ALOINJERTO

Uno de los principales obstáculos para el éxito del trasplante clínico de páncreas ha sido la alta incidencia de trombosis vascular del injerto.

La causa de esta complicación, al menos en los injertos segmentarios, se cree reside en la situación hemodinámica anormal creada tras la esplenectomía. La gran arteria esplénica debe drenar a través de las pequeñas ramas pancreáticas, y esta resistencia al flujo puede provocar trombosis.

En este sentido el páncreas se asemeja, en opinión de R.Y.Calne (1980), a una pierna con pobre vascularización distal ("run off") después de un by-pass femoropoplíteo y, de forma similar, este by-pass se puede trombosar. Además, tampoco el drenaje de las venas pancreáticas puede originar un adecuado flujo en la vena esplénica.

La trombosis puede ser arterial, venosa ó combinada, y puede ocurrir intraoperatoria, en el postoperatorio inmediato ó tardío.

La intraoperatoria se suele atribuir, aunque sin una evidencia clara, a factores técnicos en relación con las anastomosis vasculares, y no a la pancreatitis intraoperatoria con gran hinchazón y edema que se produce en muchos injertos tras la manipulación de la extracción y perfusión, así como por las lesiones parenquimatosas derivadas del tiempo de isquemia frío.

Muchos intentos se han hecho, tanto a nivel clínico como experimental, para evitar ó disminuir esta complicación cuya frecuencia

es bastante alta, aunque ha disminuido algo desde que se realizan más trasplantes de toda la glándula, en relación a los segmentarios.

Estos intentos han ido dirigidos en cuatro direcciones:

- A. Creación de una fístula A-V distal esplenoesplénica.
- B. Interposición arterial esplénica en la arteria iliaca interna y/o anastomosis dobles arteriales y/o venosas.
- C. Inclusión del bazo en el injerto.
- D. Empleo de anticoagulantes.

Una revisión de la literatura pone de relieve la gran confusión y controversia que sigue existiendo hoy día en cuanto a la(s) causa(s) de estas trombosis y las técnicas necesarias para evitarlas.

#### **A. Fístula A-V distal esplenoesplénica**

Fue propuesta por Calne a nivel experimental y clínico en 1980, encontrando una mejoría notable del flujo arterial en su modelo de aloinjerto en 8 perros, y concluyendo que la fístula parecía ofrecer ventajas a corto plazo.

De la misma opinión son Du Toit y cols. (1981) al evaluar sus resultados en un modelo de AutoxP en perros.

Recientemente Duron y cols. (1987) hacen un estudio hemodinámico en trasplantes segmentarios pancreáticos con fístula A-V en perros, confirmando el aumento de flujo en los vasos esplénicos, sin que se produzca un "síndrome de robo" ó aumento de presión en la vascularización del injerto.

De igual manera, una publicación japonesa reciente refiere un estudio hemodinámico en perros con fístula A-V esplenoesplénica término-

terminal; miden flujo tisular pancreático por un método de aclaramiento de hidrógeno y comprueban que, después de la esplenectomía, el flujo arterial esplénico se reduce a un 16% del basal; después de la fístula A-V no se reduce el flujo tisular, no produciéndose el "síndrome de robo"; además demuestran que, en condiciones de disminución temporal de flujo en la arteria esplénica a un 50% del basal (por ej., por estenosis), el flujo tisular disminuye sólo a un 80% del basal, pero no se recupera una vez recuperado el flujo esplénico, quizás debido a microtrombosis.

Concluyen, por tanto, que la fístula A-V no puede compensar una disminución del flujo tisular pancreático cuando el flujo arterial esplénico disminuye transitoriamente como consecuencia de bajo flujo sistémico, acodadura de los pedículos vasculares u otros factores (Kin y cols., 1989).

Otro trabajo japonés muy reciente estudia también el flujo tisular pancreático, a largo plazo, en un modelo de autoinjerto en perros, sin fístula A-V. Emplean un medidor de flujo de Laser-Doppler y demuestran que el flujo tisular pancreático no cambia tras la esplenectomía y que incluso aumenta a las pocas semanas.

Concluyen que la causa de trombosis en el autoinjerto pancreático no es la disminución del flujo tisular, y está probablemente relacionada con la técnica ó los materiales de sutura (Yun y cols., 1991).

En otro estudio japonés, también muy reciente, se comparan los niveles plasmáticos de tromboxano B<sub>2</sub> (potente vasoconstrictor y agregante plaquetario) y de prostaciclina (vasodilatador e inhibidor plaquetario) en un modelo de autoinjerto pancreático segmentario en perros, con y sin fístula A-V distal esplenoesplénica. Encuentran una mayor alteración en el balance tromboxano-prostaciclina en el modelo sin

fístula A-V, y postulan que el estasis sanguíneo esplénico de este modelo produce activación plaquetaria y síntesis de tromboxano, todo ello conducente a trombosis vascular (Kawai et al., 1991).

A similares conclusiones respecto a la importancia del balance tromboxano-prostaciclina en la regulación del flujo vascular en el injerto y la trombosis llegan Kin y cols. (1991).

En nuestro país Tejero Cebrián y cols. (1986) y Moreno Azcoitia y cols. (1989a) han estudiado la fístula A-V esplenoesplénica experimental. Estos últimos autores publican recientemente los resultados de un estudio comparativo de fístulas A-V en un modelo de AutoxP segmentario en perros, en situación extraperitoneal; corroboran los resultados de Calne en cuanto al aumento de flujo que se produce con la fístula A-V, y obtienen una incidencia mucho menor de trombosis en el grupo con fístula A-V; además, consiguen demostrar funcionamiento a largo plazo de la misma en 5 de sus animales (Moreno Azcoitia y cols., 1989b).

Du Toit y cols. (1983), cuando tratan de aplicar sus buenos resultados con fístulas A-V en perros (Du Toit y cols., 1981) a AutoxP en primates obtienen pésimos resultados, falleciendo los 5 animales de pancreatitis hemorrágica y trombosis venosa en las primeras 24 horas postransplante.

#### **B. Interposiciones arteriales y dobles anastomosis**

Vanek y cols. (1984) realizan un estudio comparativo (en 60 perros con AutoxP segmentario) entre la fístula A-V distal, la interposición arterial esplénica en la arteria iliaca ó la simple ligadura de los vasos esplénicos tras esplenectomía; encuentran en el grupo con ligadura

simple un 80% de trombosis, un 50% en el grupo con fístula A-V y sólo un 10% en el grupo con interposición arterial, concluyendo que la interposición parece ser la mejor técnica en la prevención de trombosis, y lo aplican al trasplante clínico.

Además, achacan a la fístula A-V la necesidad de emplear técnica microquirúrgica y la frecuente presencia de pequeños infartos y microabscesos en el parénquima, debido a la pobre vascularización.

A conclusiones similares respecto a la dudosa utilidad de las fístulas A-V llegan recientemente Agnes y cols. (1987) en otro estudio comparativo en 16 perros con AloxF segmentario.

Estos autores concluyen que la mejor técnica en la prevención de trombosis es la que llaman anastomosis "en doble puente", es decir, anastomosando ambos extremos de la arteria y vena esplénicas a la circulación del receptor; con ello realizan cuatro anastomosis vasculares, pero evitan los posibles problemas de irrigación de la pierna del animal en los casos de interposición arterial en la circulación ilíaca.

Esta interposición arterial parece ser una de las técnicas que más difusión han tenido, habiendo sido practicada por varios grupos (Collin 1978; Kocandirle y cols., 1984; Florack y cols., 1983; Baumgartner y cols., 1980).

La doble anastomosis arterial (sin doble anastomosis venosa), ya empleada experimentalmente por McPhedram y cols. (1982), ha sido empleada también en el trasplante clínico (Brekke y cols., 1987; Tydén y cols., 1988) con buenos resultados respecto a las anastomosis convencionales. Mientras que el grupo sueco hace una doble anastomosis



arterial a la iliaca, Brekke y Norstein anastomosan el extremo proximal arterial de forma convencional (termino-lateral) y el extremo distal de la arteria esplénica lo anastomosan a la arteria epigástrica inferior de forma término-terminal, comprobando un aumento de flujo medido tras apertura de esta anastomosis.

Aún ha habido grupos exclusivamente preocupados por el drenaje venoso y que han preconizado la doble anastomosis venosa, con resultados excelentes en cuanto a prevención de trombosis venosas, aunque no hacen estudio comparativo (Dickerman y cols., 1975).

Un grupo austriaco, basado en consideraciones reológicas de menor flujo a mayor diámetro de la vena, anastomosa la vena mesentérica superior, de calibre menor, en lugar de la porta, obteniendo buenos resultados en el trasplante clínico (Königsrainer y cols., 1990).

Rausis y cols., de la Lahey Clinic, en un estudio experimental publicado en 1970, relacionan las trombosis vasculares con la ligadura del conducto pancreático en AutoxP en perros; encuentran una mucha mayor incidencia de trombosis en el grupo con ligadura ductal frente al grupo con anastomosis ductal a intestino, y sugieren que ese alto porcentaje de trombosis se relaciona con los cambios inflamatorios producidos tras la ligadura ductal, que conlleva una reducción de flujo e hipercoagulabilidad.

Todas estas técnicas vasculares pueden mejorar el flujo y, a pesar de que añaden complejidad técnica, pueden ser muy válidas en el campo experimental del trasplante pancreático en perros; sin embargo, es bien sabido que el segmento pancreático utilizado en el trasplante clínico

tiene un flujo considerablemente mayor, con menos predisposición a las trombosis de este origen, y esto puede explicar el que no se hayan generalizado en la práctica clínica.

Además, el mejor y más extenso trabajo publicado hasta la fecha sobre estos aspectos técnicos del AloxP segmentario en perros, y que además sirve de referencia anatómica desde entonces (Clasificación de Florack, 1983), no encuentra necesaria la práctica de ninguna de estas técnicas, obteniendo los mejores resultados con una única anastomosis arterial y venosa termino-lateral (T-L) convencional.

Este grupo de Minnesota estudia la anatomía vascular del páncreas izquierdo en 240 perros y hacen un estudio comparativo de distintas técnicas de reconstrucción vascular en 97 animales; demuestran con claridad los mejores resultados de las anastomosis termino-laterales sobre las termino-terminales (T-T), tanto arteriales como venosas.

En realidad, las anastomosis venosas se han hecho generalmente termino-laterales desde los trabajos de Teixeira y Bergan de 1967.

Estos autores realizan un AloxP en 82 perros, con variadas técnicas de anastomosis arteriales y venosas, y demuestran una mucha mayor incidencia de pancreatitis necrotizante cuando la anastomosis venosa se hacía T-T, respecto a la T-L; argumentan que la anastomosis T-T crea una línea de sutura circunferencial en un sistema de baja presión en el que las paredes vasculares no se mantienen bien separadas en sentido lateral por la presión.

Algún trabajo publicado recientemente, sin embargo, siembra controversia en este tema; así, el grupo de la John Hopkins realiza 30 AloxP segmentarios en cerdos, pero haciendo nefrectomía izquierda en el

receptor y anastomosando el tronco celiaco del injerto a la arteria renal izqda., y la vena esplénica del injerto a la vena renal izqda., ambas de forma T-T. No encuentran ni una sola trombosis vascular, ni ven necesario el uso de fístula A-V (Koyama y cols., 1986).

Sorprende un poco la escasez de trabajos experimentales de trasplante de páncreas, en animales grandes, con técnicas microquirúrgicas de reconstrucción vascular, es decir, anastomosando directamente los vasos pancreáticos en lugar de los esplénicos.

Esto ha sido intentado en nuestro país por Tejero Cebrián y cols. (1986) en un estudio comparativo en 13 AutoxP segmentarios en perros; comparan los resultados entre la anastomosis convencional con fístula A-V, anastomosis de vasos pancreáticos a ilíacos con parche de Carrell ó anastomosis microquirúrgicas de vasos pancreáticos a esplénicos, opinando que esta última técnica reduce el riesgo de trombosis del injerto.

### **C. Inclusión del bazo en el injerto**

Fue sugerida en el trasplante clínico por Starzl y cols. en 1984, y Sollinger y cols. en 1985, como medida para prevenir la trombosis y a modo de fístula A-V "fisiológica" que mantuviera la permeabilidad vascular. .

Wahlberg y cols. (1987), en un estudio de preservación del injerto pretrasplante, realizan 17 AutoxP segmentarios en perros, con inclusión del bazo y anastomosis arterial T-T, sin encontrar ninguna trombosis arterial ni venosa.

También ha sido estudiado esto en cerdos por Gänger y cols. (1987a), y por Dafoe y cols. (1985); estos últimos autores hacen un estudio comparativo de los efectos de la inclusión del bazo sobre la función y supervivencia del injerto; encuentran que en el grupo con injerto pancreatoesplénico se producía el rechazo mucho antes que en el grupo con páncreas sólo, bajo un tratamiento inmunosupresor doble con ciclosporina A y prednisona.

Schulak y cols. (1986) han demostrado en ratas que, aunque la irradiación pretrasplante del bloque esplenopancreático puede prevenir el desarrollo de la enfermedad del injerto-contra-el-huésped, ésta es de hecho muy frecuente por la presencia del bazo en el injerto, y no lo aconsejan en el trasplante clínico (Schulak y cols., 1989).

Algún grupo ha obtenido recientemente buenos resultados tanto experimentales (Dafoe y cols., 1986) como clínicos (Dafoe y cols., 1988) mediante la irradiación del bazo ex-vivo.

Sin embargo, la inclusión del bazo ha sido prácticamente abandonada en clínica por la aparición de trastornos hematológicos (Dafoe y cols., 1988) e incluso de la enfermedad del injerto-contra-el-huésped (Gonwa y cols., 1985).

Otros estudios experimentales recientes realizados en cerdos incluyen el riñón en un único bloque duodeno-pancreato-renal, sin bazo (Gänger y cols., 1987b) ó con el bazo incluido (Gylling y cols., 1987), con objeto de disminuir el riesgo de trombosis; el objetivo es aumentar el flujo venoso portal mediante anastomosis renoportal, creando así un drenaje venoso único de todo el bloque, no ocurriendo trombosis en ninguno de los 14 cerdos transplantados (Gänger y cols., 1987b).

#### **D. Empleo de anticoagulantes**

En la experiencia de varios grupos el empleo de anticoagulantes ha disminuido el porcentaje de trombosis en el trasplante clínico, pero sólo en pacientes que han recibido trasplante doble, renal y pancreático (Tollemar y cols.,1988), y no en receptores no urémicos de trasplante pancreático único, por lo que se piensa que el efecto anticoagulante de la uremia tiene una importancia significativa.

Así, el grupo de Estocolmo, a pesar de una profilaxis agresiva que combina warfarina sódica y macrodex, encuentran un 29% de trombosis en los trasplantes únicos de páncreas en pacientes no urémicos, teniendo además con esta pauta profiláctica un porcentaje de complicaciones hemorrágicas severas nada despreciable.

En el terreno experimental el posible efecto beneficioso de los anticoagulantes ha sido menos estudiado, en beneficio del estudio de las técnicas de aumento de flujo ya comentadas.

Algún trabajo muy reciente demuestra el efecto beneficioso de la administración oral de aspirina y dipiridamol en un estudio comparativo en perros con AloxP, demostrando una reducción significativa del porcentaje de trombosis (de 38% a un 10%) (Oh y cols.,1988).

En los trabajos publicados en cerdos, ó bien no se menciona si se da anticoagulación postoperatoria (Kyriakides y cols.,1979a y 1979c; Wayand y cols.,1980; Schweizer y cols.,1984; Koyama y cols.,1986; Zimmermann y cols.,1987; Montgomery y cols.,1992) ó no la dan (Dafoe y cols.,1985; Borgström y cols.,1986). En el único trabajo en que se menciona su administración se dan 10.000u s.c./día, durante 5 días (Kyriakides y cols.,1976a).

Nosotros hemos administrado, de forma sistemática, heparina sódica al 1% a dosis bajas (2.500u i.v./12 horas), no habiendo tenido complicaciones hemorrágicas.

### Viabilidad vascular de nuestro modelo de Aloinjerto

En este trabajo experimental no hemos pretendido el estudio comparativo de estas técnicas de prevención de trombosis (fístulas A-V, interposiciones, anastomosis dobles, anticoagulantes) en el modelo de AloxP por varias razones:

1) La inmensa mayoría de estos estudios experimentales se han llevado a cabo en perros, donde el porcentaje de trombosis, en general, es bastante más alto (tanto en AutoxP como en AloxP) que en el trasplante clínico, por razones anatómicas fundamentalmente.

2) Ninguno de los trabajos publicados hasta ahora con modelos de AloxP en cerdos menciona la necesidad del empleo de estas técnicas, lo que parece indicar que en este animal el trasplante segmentario de páncreas es más viable desde el punto de vista vascular, con técnicas más sencillas (Wayand y cols., 1980; Dafoe y cols., 1985; Koyama y cols., 1986; Gänger y cols., 1987a y 1987b).

3) El modelo ideal de estudio de estas técnicas vasculares es el modelo de AutoxP, que elimina las posibles trombosis provocadas por el rechazo. Este modelo no lo hemos podido desarrollar en el cerdo por las razones ya comentadas.

A pesar de haber empleado la técnica de revascularización estándar, el ensayo 1 de la Segunda Fase nos pareció justificado como fase de montaje del modelo, pues presumíamos que la curva de aprendizaje tendría

una influencia importante en los resultados y que al principio íbamos a tener muchos injertos trombosados, como así ha sucedido.

El hecho de haber realizado esos 4 trasplantes con inclusión del bazo vino motivado por un intento de comprobar si esta técnica podía disminuir los malos resultados iniciales, puesto que nuestro objetivo era crear un modelo con la suficiente viabilidad vascular que nos permitiera el estudio de las técnicas de "control" de la secreción exocrina en los primeros días postrasplante.

Sin embargo, sí que podemos hacer un análisis global de nuestros resultados de viabilidad vascular del injerto, a la luz de los resultados del estudio anatomopatológico.

El período de observación de diez días postoperatorios nos parece suficiente para la evaluación del porcentaje de trombosis vasculares, en virtud de lo referido en la literatura; así, Florack y cols.(1983), en su estudio de AutoxP en 97 perros, no observan ninguna trombosis después del 7º día postop., y afirman que después de este día se ha completado ya el desarrollo del neointotelio en la anastomosis arterial.

A las mismas conclusiones llegan Kawai y cols.(1988) en sus 25 AutoxP en perros, no observando ninguna trombosis arterial ni venosa después del 8º día postoperatorio, aunque tienen un porcentaje de trombosis del 40.9%.

Ambos grupos observan que las trombosis venosas ocurren casi siempre en las primeras 48 horas, mientras que las arteriales son algo más tardías. Otro estudio reciente, sin embargo, encuentra justamente lo contrario, es decir, trombosis arteriales en las primeras 48 horas y venosas entre el 2º y 8º días (Duron y cols.,1986).

En nuestro estudio no se han observado trombosis después del 4º día postrasplante, ocurriendo la mayoría (69%) en el postoperatorio inmediato ó primeras 48 horas. La mayoría han sido de origen arterial, no pudiendo precisar el patólogo en algunos casos si el injerto había dejado de funcionar por rechazo masivo ó trombosis venosa; macroscópicamente, en ambas situaciones el injerto aparece muy hinchado y de un color rojizo-oscuro muy intenso, mientras que en la trombosis arterial aparecieron con coloración muy pálida y muy reducidos de tamaño.

El porcentaje global de trombosis del 33% se considera alto, aunque es de notar la diferencia significativa en los porcentajes de trombosis entre los Ensayos 1 y 2, correlativos en el tiempo; así, mientras que en la Fase de montaje del modelo este porcentaje de trombosis fue del 60%(N=10), en la Fase de estudio definitiva(Ensayo 2) fue del 24%(N=29) ( $z=2.1176$ ;  $p<0.02$ ).

Esta incidencia de trombosis se compara favorablemente a algunas de las referidas en aloinjertos en perros, aunque resulta difícil de contrastar con los trabajos realizados en el cerdo, pues no suele venir referida, ó se mezclan aloinjertos con inclusión del bazo (Dafoe y cols.,1985) ó del riñón (Koyama y cols.,1986; Gänger y cols.,1987b; Gruessner y cols.,1990).

Muy recientemente Nicholson y cols.(1991) refieren un sólo caso de trombosis en sus 26 aloinjertos pancreatoduodenales en cerdos, aunque al tratarse de la glándula completa no puede ser comparable; además, sólo 16 animales (61.5%) sobreviven a la cirugía con el aloinjerto funcionando, no especificando las causas de muerte.



Si dividimos los 33 Aloinjertos del Ensayo 2 en tres grupos de 11 correlativos en el tiempo, observamos que tuvimos 2, 2 y 3 injertos trombosados, respectivamente; es decir, no hubo mayor porcentaje de trombosis en el primer período con relación a los demás.

Esto nos indica que, una vez superada la obligada curva de aprendizaje técnico, con gran número de trombosis (Ensayo 1), el porcentaje de las mismas disminuye de manera importante pero manteniéndose más o menos constante, dato confirmado en clínica por una mayoría de grupos.

Esta curva de aprendizaje es tan constante en el trasplante pancreático, que la UNOS (United Network for Organ Sharing) considera un requisito imprescindible, para Centros con programas iniciales, 3 meses de aprendizaje en Instituciones donde ya se ha superado esa curva (Corry, 1991).

### Tratamiento inmunosupresor y rechazo.

El pequeño porcentaje de rechazos (13.7%) encontrado en los injertos del Ensayo 2, con régimen de inmunosupresión triple, contrasta con el frecuente rechazo en el Ensayo 1, con un régimen doble (sin ciclosporina A), confirmando la validez del primero, ya demostrada experimentalmente por Koyama y cols. (1986) en el mismo modelo animal.

Debido al corto seguimiento postoperatorio y a la intensa anorexia en muchos animales, se decidió administrar todo el tratamiento inmunosupresor por vía i.v., actitud seguida por una mayoría de autores en el mismo modelo animal (Schweizer y cols., 1984; Dafoe y cols., 1985; Gänger y cols., 1987a y 1987b; Dafoe y cols., 1989; Nicholson y cols., 1991).

Además, ha sido demostrado que la absorción de CsA por vía oral es lenta, incompleta y errática (Munda y cols., 1988).

La farmacocinética de la CsA ha sido muy bien estudiada en el cerdo, tanto por vía i.v. (Freeman y cols., 1990) como i.m. (Filipponi y cols., 1990), observándose la buena absorción que tiene también por vía intramuscular y siendo ésta la única vía posible de administración de la droga en experimentos crónicos con cerdos.

Una considerable variabilidad en la farmacocinética de la CsA ha sido observada también después de la administración i.v., con niveles plasmáticos por debajo del límite inferior del rango terapéutico aceptado en clínica (300ng/ml) (Yee y cols., 1988; Lim y cols., 1988).

Esto explicaría la variabilidad también observada en los niveles plasmáticos en nuestros animales, y apoyaría las tesis de los que defienden la inutilidad de la medición de niveles de CsA en el trasplante clínico (Henry y cols., 1988; Kumar y cols., 1988).

Debido quizás al corto seguimiento postoperatorio, en ninguno de nuestros animales se ha apreciado nefrotoxicidad atribuible a la CsA.

Es bien sabido que esta toxicidad es dosis-dependiente, existiendo estudios experimentales donde se ha apreciado nefrotoxicidad después de sólo 7 días de tratamiento, pero a altas dosis (30mg/kg) (Friedman y cols., 1988). En clínica, la toxicidad vascular intersticial ocurre rara vez antes del 2º mes de tratamiento, pero puede estar presente incluso dentro de la primera semana.

Experimentalmente se ha comprobado que no hay diferencias en el efecto inmunosupresor al dar la CsA una vez al día ó en dosis fraccionadas, aunque la función renal es menor con la monodosis (Dieperink y cols., 1988).

La normalidad de los tests de sobrecarga i.v. de glucosa y valores "k" obtenidos tampoco avalan, en nuestro trabajo, algunos resultados experimentales y clínicos de intolerancia a la glucosa en asociación con insulinemias elevadas, observados en las primeras semanas de administración de dosis terapéuticas de CsA oral (10mg/kg/día), y que traducirían una resistencia periférica a la insulina (Yale y cols., 1988).

#### **Anomalías vasculares encontradas**

Han sido menores que las descritas en el perro (Florack y cols., 1983). Si consideramos los 125 animales evaluables (10 en la Fase primera, 25 del modelo de autoinjerto y 90 del modelo de aloinjerto), sólo en 3 (2.4%) se encontró una vascularización del páncreas izquierdo a partir de la AMS (Tipo III de Florack).

Entre las venosas observamos 4 casos de vena esplénica doble, en 3 de los cuales confluían ambas en un tronco común en su unión a la vena porta.

### **Perfusión hipotérmica de los injertos**

Un aspecto técnico que en algunos casos probablemente guarde relación con la incidencia de trombosis vasculares es el de la perfusión de los injertos "in situ" ó "ex-vivo". Esta perfusión se utiliza para reducir los requerimientos metabólicos del órgano y la actividad enzimática durante la hipotermia, y para la limpieza del árbol vascular, siendo de empleo rutinario en clínica.

También se ha empleado en la mayoría de trabajos experimentales, existiendo, sin embargo, autores que no la han hecho por no considerarla necesaria (Teixeira y cols., 1967). Incluso hay autores que la cuestionan en el trasplante hepático experimental, observando una mejor reperfusión y función en autoinjertos hepáticos no perfundidos frente a los perfundidos con Ringer L. ó EuroCollins (Pienaar y cols., 1991).

El grupo de Iowa atribuye una disminución notable del porcentaje de sus trombosis en el trasplante clínico a la reducción del volumen de perfusión "in situ" (Corry, 1991).

En opinión del grupo de Minnesota la solución de perfusión en injertos frescos no preservados no influye en la supervivencia funcional, siendo lo más importante la técnica quirúrgica (Baumgartner y cols., 1981).

Las soluciones más empleadas han sido el Ringer lactado y la solución de Collins, con inclusión de heparina y corticoides en algunos casos. La presión de perfusión ha sido siempre por gravedad, existiendo

un cierto consenso en que no deben sobrepasarse los 30cm. de agua, aunque se hayan realizado perfusiones a 50cm. (Duron y cols.,1986) y hasta un metro (Gänger y cols.,1987a y 1987b).

Los factores potencialmente productores de pancreatitis durante la extracción, perfusión e implante del injerto son tan variados (manipulación, tiempos de isquemia, etc.) que hacen que resulte muy difícil ó imposible el poder determinar en un estudio comparativo el efecto beneficioso ó perjudicial de la perfusión en injertos frescos no preservados. En nuestra experiencia esta perfusión desencadena y agrava en muchos casos el edema y la hinchazón que se observa en el injerto, y este es el motivo de que no hiciéramos la perfusión en los animales del Ensayo 2, obteniendo la impresión subjetiva de que así evitábamos en gran medida este edema.

Los tiempos de isquemia fría en nuestros aloinjertos nunca han superado las 2 horas, siendo algo menores que los comunicados por otros autores en modelos similares (Wayand y cols.,1980; Gänger y cols.,1987a y 1987b).

### **V.3. EL CONTROL DE LA SECRECIÓN EXOCRINA : PANCREATITIS Y COMPLICACIONES SEPTICAS INTRAABDOMINALES.**

Desde los primeros estudios experimentales hasta nuestros días se han empleado una gran variedad de procedimientos en el control de la secreción exocrina, en un intento de evitar ó disminuir las complicaciones sépticas intraabdominales. Estos procedimientos se pueden dividir en 3 grandes grupos:

- A. Drenaje libre a cavidad peritoneal.
- B. Técnicas de ligadura y oclusión ductales.
- C. Técnicas de drenaje a vísceras huecas, principalmente vejiga, uréter, intestino delgado y estómago.

#### **A. Drenaje libre a cavidad peritoneal.**

El trasplante segmentario de páncreas con drenaje libre a cavidad peritoneal ha sido empleado en especies animales mayores (cerdos, perros y primates) y en ratas, con resultados desiguales (Florack y cols., 1989).

En cerdos, Kyriakides y cols. (1979c) demostraron en Aloinjertos segmentarios que la secreción exocrina era reabsorbida por el peritoneo, sin complicaciones inflamatorias ni infecciosas; postulan que esta función del peritoneo puede ser crítica sólo en los primeros días postoperatorios, puesto que ya había sido comprobado que la función exocrina del injerto disminuye gradualmente hasta cesar (Ashikari y cols., 1968).

Así, el conducto pancreático dejado abierto se cierra completamente en unos tres días por la aposición de las hojas del mesenterio, órganos adyacentes y epiplon, y esto resulta en atrofia completa de la función exocrina.

En perros, estos mismos autores también demostraron la viabilidad del drenaje libre, sin desarrollo de ascitis pancreática (Kyriakides y cols., 1981), al contrario de Du Toit y cols. (1981) que sí encuentran ascitis en su modelo de Autoinjerto con drenaje libre.

En 3 de nuestros 4 Autoinjertos funcionantes, y en los Aloinjertos funcionantes del Ensayo 1, todos ellos con drenaje libre a cavidad peritoneal, hemos podido comprobar la práctica ausencia de colecciones perinjerto ó ascitis pancreática, aunque es bien sabido que en el trasplante clínico ocurre lo contrario.

La ascitis pancreática resultante de la pobre absorción peritoneal de las secreciones exocrinas en el trasplante clínico, constituye un excelente ambiente para el crecimiento de microorganismos, siendo la fuente de infección la contaminación intraoperatoria ó la fístula anastomótica.

Como han demostrado Traverso y MacFarlane (1987b) en un estudio experimental en perros, la administración de antibióticos profilácticos es crítica en la supervivencia de estos animales con jugo pancreático libre en cavidad peritoneal.

#### **B. Ligadura y oclusión ductales.**

La ligadura ha sido evaluada por varios investigadores, con resultados variables. Así, Toledo-Pereyra y cols. (1979) encontraron mínima a moderada fibrosis con desestructuración acinar e insular a las

5 semanas del trasplante segmentario en perros, y estos cambios seguían persistiendo al año. En animales pequeños se han observado cambios similares (Shah y cols.,1980).

En el trasplante clínico la ligadura ductal se ha acompañado de una alta incidencia de fístulas pancreáticas.

La oclusión ductal se ha practicado de forma inmediata ó retardada, y temporal ó definitiva.

Varios estudios experimentales han evidenciado que el trasplante con conducto obliterado conduce también a una pérdida de la función endocrina, con una reducción cualitativa y cuantitativa en la secreción de insulina de hasta el 75% (Gooszen y cols.,1984a; Gooszen y cols.,1988); sin embargo, hay estudios de seguimiento a largo plazo de Autoinjertos segmentarios en perros, donde permanecen euglucémicos a los 3 años del trasplante (Cutfield y cols.,1984) y a los 5 años (Ekberg y cols.,1988b).

El método de oclusión ductal con neoprene fue popularizado por el grupo de Lyon en 1978 (Dubernard y cols.,1978). El neoprene es una goma líquida sintética de un pH de 12 a 14 y que se solidifica cuando cambia de pH. Produce una fibrosis progresiva pero mantiene los islotes bien vascularizados y funcionantes durante períodos de tiempo prolongados (Dubernard y cols.,1989; Tydén y cols.,1989).

La oclusión con prolamina(Ethibloc), popularizada por Gebhardt y Stolte (1978), también produce fibrosis, habiendo sido empleada en numerosos estudios experimentales (Nghiem y cols.,1985; Gooszen y cols.,1984a). Este compuesto de aminoácidos tiene la propiedad de desintegrarse a las 2 semanas de su uso, y ha sido empleado con éxito en la oclusión endoscópica del conducto en casos de pancreatitis crónica



(Rosch y cols.,1979) y en el trasplante clínico. Para el grupo de Munich, el trasplante segmentario con oclusión ductal con prolamina representa la técnica quirúrgica que realizan con exclusividad (Höhnke y cols.,1989).

Compuestos de silicona han sido empleados también en oclusión ductal experimental, en trasplantes en cerdos (Schweizer y cols.,1984) y en oclusión ductal de páncreas en perros (Nghiem y cols.,1985).

Igualmente, adhesivos biológicos de fibrina han sido empleados con el propósito de oclusión temporal del conducto.

La oclusión retardada ha sido utilizada en clínica por algunos grupos, con buenos resultados (Aigner y cols.,1987; Margreiter y cols.,1988; Decurtins y cols.,1987). Mantienen el wirsung cateterizado al exterior durante unos 2 meses hasta la estabilización de la función del injerto, y luego lo ocluyen con solución de prolamina; argumentan que la oclusión primaria con prolamina, inmediatamente después del trasplante, produce edema y secreción transcapsular profusa de jugo pancreático, y ello es causante de fístulas postoperatorias. La oclusión retardada permite monitorizar mejor la función del injerto los 2 primeros meses y disminuye de manera importante la incidencia de fístulas postoperatorias y de reintervenciones.

### C. Drenaje a víscera hueca.

Numerosos estudios experimentales han demostrado su superioridad frente a las técnicas de oclusión ductal (Nghiem y cols.,1985) ó drenaje libre (Florack y cols.,1989).

Aunque el drenaje a vejiga es el más empleado en la actualidad, el drenaje a intestino delgado sigue siendo el más fisiológico, a pesar de

la gran desventaja que supone la activación de los enzimas pancreáticos al contacto con la mucosa intestinal, y la potencial morbilidad derivada de ello.

Sin embargo, el grupo de Minnesota, en una de sus últimas revisiones sobre morbilidad en el trasplante clínico no encuentra diferencias estadísticamente significativas entre el drenaje a vejiga ó a intestino delgado (Burke y cols.,1988). Atribuyen la disminución de las colecciones fluidas intraabdominales, respecto a su experiencia previa, a 3 factores

- terapia antibiótica triple profiláctica.
- sutura de los linfáticos peripancreáticos en la extracción del donante.
- irrigación del duodeno con povidona yodada.

El grupo de Estocolmo atribuye, en parte, la mejoría de sus resultados en el trasplante clínico con drenaje a intestino, en los últimos años, a la exteriorización temporal del jugo pancreático mediante cateterización del Wirsung. También consideran de ayuda la reducción al mínimo del tiempo de isquemia frío, para disminuir el porcentaje de pancreatitis, y una pauta de anticoagulación agresiva (Tydén y cols.,1987a; Groth y cols.,1989).

El grupo de la Universidad de St. Louis también ha mejorado los resultados de sus pancreaticocistostomías exteriorizando la secreción por catéter durante 6 semanas (Castaneda y cols.,1988).

A nivel experimental se ha preconizado la sutura directa mucó-mucosa pancreatoyeyunal en la prevención de fístulas y para mejorar los

resultados a largo plazo, pues impediría el cierre del Wirsung (Liu y cols., 1987; Nghiem y cols., 1985).

### Complicaciones sépticas intraabdominales

Nuestros resultados globales en cuanto a sepsis intraabdominal (42.8%) confirman los de muchos trabajos previos con modelos semejantes de drenaje a intestino delgado.

Las complicaciones sépticas intraabdominales en el trasplante pancreático pueden ser secundarias a fístulas anastomóticas ó contaminación intraoperatoria, aunque en el trasplante con drenaje entérico ó al tracto urinario generalmente se deben considerar secundarias a fístulas anastomóticas, sobre todo si hay una peritonitis generalizada (Hesse y cols., 1986).

De todas maneras, donde más contaminación intraoperatoria cabría esperar en nuestro modelo es en el grupo IV (el único sin una anastomosis pancreatoyeyunal directa, pero con más anastomosis intestinales), y es donde no han existido prácticamente complicaciones sépticas. Por tanto, podemos achacar las complicaciones sépticas encontradas (3 animales con peritonitis generalizada y 6 con colecciones purulentas localizadas) a fístulas de la anastomosis pancreatoyeyunal; además, el cultivo de gérmenes de procedencia intestinal así parece confirmarlo, obteniéndose cultivos totalmente superponibles a los de algún estudio de peritonitis por perforación intestinal traumática en cerdos (Nyström y cols., 1983).

La identificación de fístulas ó dehiscencias anastomóticas nos ha resultado un procedimiento tedioso y no muy fiable debido al bloqueo de la anastomosis y del propio injerto por las asas intestinales envolventes, al 10º día postoperatorio.

En algún trabajo experimental en perros las fístulas anastomóticas se han tratado de evidenciar identificando el asa anastomosada e inyectando suero a presión (McCarthy y cols.,1987), procedimiento que no nos ha sido posible aplicar por dificultades en la identificación del asa anastomosada.

Trasplantes en ratas, con drenaje a yeyuno, han evidenciado que el tratamiento inmunosupresor con ciclosporina A contribuye a aumentar de manera clara el porcentaje de infecciones locales y sistémicas, con cultivos que demuestran gérmenes de procedencia intestinal (Lindsey y cols.,1984).

#### **V.3.1. Hormonas inhibidoras de la secreción exocrina : Somatostatina**

Kyriakides y cols.(1976a) fueron los primeros en demostrar que la administración de glucagón (una hormona con efecto supresor de la función exocrina pancreática en el hombre)(Dyck y cols.,1970) a cerdos con AutoxP en el cuello, con conducto ligado, reducía considerablemente el acúmulo de fluido peripancreático, previniendo los abscesos alrededor del injerto; administraba 4mg i.m. cada 12 horas y 1mg i.v. preop..

Otros agentes farmacológicos se han empleado a nivel experimental en el trasplante de páncreas, en un intento de disminuir ó controlar la

secreción exocrina; entre ellos la dimetil PG E2, con resultados positivos (Garvin y cols.,1989).

Estudios experimentales en los últimos años han demostrado que la somatostatina(SMT) reduce la secreción exocrina pancreática no estimulada (Boden y cols.,1975; Reyl-Desmars y cols.,1982), con un efecto precoz y rápidamente reversible, habiendo sido demostrada su eficacia clínica en el tratamiento, entre otros procesos, de la pancreatitis aguda (Limberg y cols.,1980; Usadel y cols.,1980) y fístulas pancreáticas e intestinales (Hild y cols.,1982; Di Constanzo y cols.,1982; Jost y cols.,1984).

Su empleo en el trasplante experimental de páncreas es muy reciente (Steiner y cols.,1984; Gómez Gutierrez y cols.,1988).

Steiner, Landgraf y cols.(1984) la emplean en un estudio comparativo en 15 perros con AutoxP segmentarios en el cuello y conductos inyectados con prolamina; en 5 de ellos mantuvieron una infusión constante de SMT durante 10 días. Estos autores extraen los injertos a las 2 semanas, observando menos edema y fibrosis en el grupo tratado con SMT; además, la secreción por la herida cervical cesó en los tres primeros días en este grupo, en comparación con una secreción más prolongada en los demás; encuentran, además, una disminución efectiva de los niveles de amilasa y lipasa, y una mejor función endocrina del injerto.

En nuestro país la han empleado en el trasplante experimental Gómez Gutierrez y cols.(1988), en perfusión i.v. intraoperatoria en 5 perros con AutoxP en región inguinal, observando una inhibición eficaz de todos los componentes más importantes de la secreción exocrina pancreática.

También han estudiado su efecto inhibidor de la función ductal del páncreas canino Pardo Correcher y cols.(1988), aunque no en el trasplante sino en un modelo de fístula pancreática crónica en 6 perros. Landa García y cols.(1991) han estudiado su efecto beneficioso en un modelo de pancreatitis aguda necrohemorrágica en el perro.

Los grupos de Munich(Landgraf y cols.,1986) y Estocolmo(Tydén y cols.,1987b) han empleado la SMT en el trasplante clínico de páncreas, en un intento de prevención de las colecciones líquidas peripancréaticas y fístulas postrasplante.

El uso terapéutico de la SMT, sin embargo, se ha visto limitado por su corta vida media y sus múltiples efectos, lo que ha dado lugar a la síntesis de análogos con una duración de acción prolongada y efectos más específicos.

El empleo de estos análogos en la clínica (Whitehouse y cols.,1986; Wood y cols.,1985; Koelz y cols.,1987) y en el laboratorio experimental (Liu y cols.,1985b) es también reciente, y comienza con la síntesis del SMS-201-995 ó "minisomatostatina selectiva" por Bauer y cols., en 1982.

Estos investigadores suizos comprueban que este análogo "in-vivo" es, en la rata y en el mono, al menos 20 veces más activo que la SMT, de una duración de acción mucho más prolongada y mucho más selectivo inhibiendo la hormona del crecimiento que inhibiendo la insulina; además, potencia el efecto hipoglucemiante de la insulina, muy probablemente mediante la supresión de la secreción de glucagón. Este análogo es también activo por vía oral y s.c., y su acción es prolongada, con una vida media de 113 minutos tras administración s.c., y una actividad biológica entre 6 y 12 horas después de su

administración s.c. en el hombre (Del Pozo y cols.,1986); tras su administración i.v. tiene una vida media de 43 minutos, frente a 1-3 minutos para la SMT.

Las aplicaciones clínicas del SMS 201-995 (acetato de octreótido) han sido muy numerosas en los últimos años (Astorga Jiménez, 1989); así, en clínica se ha empleado en el tratamiento de tumores endocrinos pancreáticos (Wood y cols.,1985; Koelz y cols.,1987; Gilsanz Peral y cols.,1987; Sánchez García y cols.,1987; Varas Lorenzo y cols.,1988; Varas Lorenzo y cols.,1991), fístulas pancreáticas (Prinz y cols.,1988; Williams y cols.,1989) e intestinales (Nubiola y cols.,1989) e hipertensión portal (Jenkins y cols.,1985), con buenos resultados.

A nivel experimental ha inhibido el crecimiento de dos carcinomas pancreáticos humanos implantados en el ratón (Upp y cols.,1988).

#### **V.3.2. Empleo del SMS-201-995 en Fístulas pancreáticas y Pancreatitis**

Existe evidencia en la literatura de la utilidad del SMS-201-995 en el tratamiento de las fístulas pancreáticas post-cirugía resectiva de la glándula; así, Williams y cols.(1989) lo emplean en 6 pacientes (3 con fístulas pancreáticas post-Whipple, otro con fístula secundaria a un drenaje externo de un pseudoquiste, y en 2 casos de drenajes pancreáticos postresección), encontrando una reducción del 75% del volumen de drenaje y del 63% del contenido de amilasa; administran el SMS 201-995 a dosis de 100µg s.c./8h. y concluyen que puede ser útil en el tratamiento de fístulas pancreáticas establecidas y en la profilaxis de fístulas postoperatorias.

Prinz y cols. (1988) también lo emplean en 5 fístulas pancreáticas de etiología diversa, a dosis de 0.05mg s.c./12h. que incrementan hasta 0.2mg s.c./8h. si la fístula no cerraba en 1 ó 2 semanas. Encuentran en los 5 pacientes una reducción significativa y precoz del volumen medio de drenaje, aunque las concentraciones de amilasa y lipasa permanecieron muy elevadas durante su administración.

Su empleo profiláctico en la pancreatitis experimental ha tenido resultados contradictorios, según el modelo animal y método utilizado (Baxter y cols., 1985).

Augelli y cols. (1989) lo emplean en un modelo de pancreatitis hemorrágica aguda inducida por bilis en el perro; administran el análogo por vía i.v. a 3 grupos de animales, antes de la inducción de la pancreatitis, 2 horas y 6 horas después de la inducción, respectivamente. Sacrifican los animales supervivientes a las 24 horas y cuantifican la severidad de la pancreatitis en función de la supervivencia y hallazgos clínicos y macroscópicos, según una escala de valoración que hemos utilizado como modelo en nuestro trabajo experimental. Estos autores comprueban cierto efecto beneficioso del SMS 201-995 sólo si era administrado antes de la inducción de la pancreatitis.

En el cerdo, la administración de SMS 201-995 en infusión continua ha demostrado efectos hemodinámicos importantes, con aumento de la resistencia vascular esplácnica y disminución del flujo y presión portales, aumento de la presión arterial y disminución del gasto cardíaco (Jenkins y cols., 1985); sin embargo, un estudio posterior en el mismo modelo animal no ha evidenciado ningún efecto vasoconstrictor esplácnico (Cambria y cols., 1987).



En algún trabajo la administración de la molécula original de Somatostatina (no del análogo) en el cerdo ha provocado una reducción importante del flujo vascular pancreático, previniendo sus autores sobre su posible efecto perjudicial en la pancreatitis aguda (Schröder y cols., 1988).

#### **V.3.3. Empleo del SMS-201-995 en el trasplante pancreático : Efecto sobre la Pancreatitis del injerto.**

El empleo del SMS 201-995 en el trasplante clínico de páncreas tiene escaso reflejo en la literatura, habiéndose administrado fundamentalmente en casos aislados para el tratamiento de colecciones peripancreáticas y fístulas después del trasplante, y no como tratamiento profiláctico.

El grupo de Munich lo ha empleado para el tratamiento de estas colecciones en varios de sus trasplantes (Landgraf y cols., 1987), al igual que Rosenberg y cols. (1987) y Cooper y cols. (1989).

Estos dos últimos grupos refieren un dramático descenso del volumen de la fístula en sus respectivos casos y en las primeras 24 horas de la administración de una dosis de 50µg s.c./12h.. El contenido en amilasa del líquido de drenaje se mantuvo, sin embargo, alto. Rosenberg y cols. comprueban además el efecto del SMS 201-995, observando un aumento precoz y notable del volumen de la fístula al cesar el tratamiento; durante este tratamiento disminuyeron además los niveles de amilasa e insulina en sangre, y aumentaron de nuevo al cesar el mismo.

Basadonna y cols. (1990) lo emplean en el postoperatorio de 3 trasplantes segmentarios con oclusión ductal con Neoprene. No encuentran

alteración de la función endocrina ni disminución de la cantidad de líquido de drenaje peripancreático, pero sí del contenido en amilasa de este líquido de drenaje.

El único grupo que ha publicado el empleo profiláctico de SMS 201-995 en el trasplante clínico de páncreas es el de Daloze y cols. (1989). La administran a dosis de 100µg sc/12h. durante los 10 primeros días postrasplante, en un intento de disminuir la actividad exocrina del injerto. Comparan los resultados del grupo de trasplantes tratados con SMS 201-995 con sus otros grupos previos, y concluyen que la profilaxis con este análogo parece correlacionarse con la prevención de la pancreatitis precoz postrasplante. Sin embargo, al no tratarse de grupos controlados (diferentes técnicas quirúrgicas, mayor experiencia técnica en el último grupo, etc.), sus conclusiones no pueden ser muy válidas.

A nivel experimental los trabajos publicados son aún más escasos. El primero publicado sobre el empleo de uno de estos análogos (L363,586) en el trasplante de páncreas aparece en el año 1985, por el grupo de Minnesota (Liu y cols., 1985b). Hacen un estudio comparativo en 12 perros con AutoxP segmentario y drenaje a vejiga, administrando a 7 de ellos el análogo de SMT durante 7 días, mediante infusión continua s.c. por medio de una bomba osmótica implantable. Encuentran en los perros tratados niveles menores de amilasa, en relación al grupo control, y no observan tampoco ninguna fístula anastomótica, en claro contraste con sus trabajos previos; además, al igual que Steiner y cols. (1984), encuentran mejor función endocrina (mayores valores K) en el grupo tratado, sugiriendo la hipótesis de que el tratamiento con el análogo, al

disminuir la pancreatitis, disminuye también el efecto perjudicial de la pancreatitis sobre la función insular.

Recientemente un grupo holandés ha empleado el SMS-201-995 en el trasplante experimental en ratas y perros para comprobar su posible eficacia en la reducción de la pancreatitis postransplante; sus resultados no han sido satisfactorios, no revelando el estudio histológico diferencias entre los grupos tratados y los controles, existiendo un grado similar de infiltración, edema y congestión ductal (Spillenaar Bilgen y cols., 1989).

Muy recientemente un grupo de la Clínica Mayo publica un estudio sobre el efecto del SMS 201-995 en el postoperatorio precoz del aloinjerto pancreatoduodenal (con drenaje a vejiga) en el minipig. Administran 75µg s.c. cada 8 horas y encuentran disminución del flujo vascular en los injertos de los animales tratados con el acetato de octeótrido frente a los controles. Las cifras de amilasemia fueron similares en ambos grupos, y el SMS 201-995 no disminuyó las cifras de amilasuria. Tampoco se afectaron los niveles séricos de la Ciclosporina A administrada por vía i.v.; a pesar de la triple inmunosupresión, sus injertos se rechazaron hacia el 11º-12º día postransplante, no influyendo tampoco el SMS 201-995 en el grado de rechazo. Concluyen que en este modelo el octeótrido puede influir negativamente en el curso postoperatorio precoz al disminuir el flujo vascular del injerto (Nicholson y cols., 1991a y 1991b).

No existen estudios de dosis-respuesta en el modelo porcino, y, en general, las dosis administradas se han basado en los rangos admitidos en clínica y en un modelo porcino (Jenkins y cols., 1985).

En relación a su mecanismo de acción, el acetato de octeótrido puede no actuar a través de los receptores de somatostatina presentes en las células acinares y sí a través de mecanismos colinérgicos, lo que explicaría la falta de efecto a dosis terapéuticas en injertos denervados; sin embargo, un estudio muy reciente sobre su empleo en autoinjertos pancreáticos (denervados) en perros encuentra un profundo efecto inhibitorio sobre la secreción exocrina estimulada por la comida, pero no sobre la secreción basal, lo que complica la hipótesis de los mecanismos de inhibición neurogénicos ó acinares directos (Garvin y cols., 1991).

Creemos que, junto con el de Nicholson y cols., el nuestro es uno de los primeros trabajos experimentales en el que se emplea el SMS-201-995 para valorar su posible acción beneficiosa en el control de la secreción exocrina pancreática postrasplante y en la hipotética disminución de la pancreatitis del injerto.

Las dosis que hemos empleado (100µg s.c. cada 12 horas) se ajustan a las recomendadas y utilizadas en los trabajos revisados. Así, en clínica se han administrado desde 50µg (0.05mg) s.c. cada 12 horas, hasta 200µg (0.2mg) s.c. cada 8 h., 100µg cada 6 h. ó 100µg s.c. cada 12 h.

Los resultados en este modelo experimental no avalan el uso profiláctico del octeótrido en el trasplante de páncreas, en un intento de disminuir la incidencia y gravedad de la pancreatitis postrasplante.

Así, no se han observado diferencias en los niveles de amilasa en sangre, respecto al grupo control (Grupo I), durante los 5 días de administración de la sustancia a los 11 animales evaluables de los grupos II y III.

El contenido en amilasa de las colecciones fluidas peripaneáticas tampoco varía respecto al grupo control, aunque el volumen medio de estas colecciones se redujo a la mitad, siendo posible aunque aventurado atribuir esta reducción al efecto del SMS 201-995.

De las pocas referencias disponibles en la literatura, el grupo italiano antes aludido encuentra justo el efecto contrario en sus 3 trasplantes clínicos segmentarios con oclusión ductal con neoprene. Estos autores empiezan a administrar el SMS 201-995 al 5º-6º día postrasplante, a una dosis de  $3\mu/\text{Kg}/\text{día}$  dividida en 3 dosis subcutáneas; no encuentran disminución de la cantidad de líquido de drenaje peripaneático, pero sí del contenido en amilasa de ese líquido de drenaje. Postulan que la falta de reducción del volumen de drenaje se debe probablemente a linfa y otras secreciones, y consideran que, debido a esa reducción en el contenido de amilasa, el SMS 201-995 puede ser un complemento útil de las técnicas de oclusión ductal (Basadonna y cols., 1990).

En cuanto al funcionamiento endocrino de nuestros injertos, los valores "K" obtenidos aparecen como normales y muy alejados del perfil diabético (" $k$ " < 1). Estos valores se corresponden con los referidos por otros autores en el mismo modelo animal, aunque empleando una metodología de cálculo diferente (Gänger y cols., 1987a y 1987b).

Los valores de "k" fueron superiores en los grupos tratados con SMS 201-995, corroborando los hallazgos del grupo de Minnesota (Liu y cols., 1985b) y de Steiner y cols. (1984); sin embargo, la hipótesis de los primeros sobre mejor función insular debida a una menor pancreatitis no parece aplicable a nuestros resultados, al no haber encontrado menor

grado de pancreatitis macroscópica ni histológica en los grupos tratados con el análogo de SMS, respecto al grupo control.

Un efecto adicional, aunque poco estudiado, del SMS 201-995 es su efecto inmunosupresor en experimentos "in vitro" y la potenciación de la acción inmunosupresora de la CSA parenteral, demostrados en algún trabajo experimental donde se apreció menos infiltración linfocitaria y menos rechazo en los grupos tratados con el análogo (Padberg y cols., 1991).

Nuestros resultados al respecto no avalan este posible efecto adicional del SMS 201-995, puesto que el grado de infiltración linfocitaria y de rechazo fue similar en todos los grupos.

Tampoco se ha visto la potenciación de los efectos tóxicos de la CSA (intolerancia a la glucosa, nefro- y hepatotoxicidad) descrita en algún trabajo experimental que asocia el tratamiento con SMS 201-995 y CSA (Yale y cols., 1991).

### Histología del rechazo y de la pancreatitis postrasplante.

Amenudo es difícil distinguir las características de la pancreatitis por rechazo de las de la pancreatitis por otras causas (isquémica, traumática), tanto en el trasplante clínico como en el experimental (Groth,1988). Los datos clínicos que se suelen valorar son:

- el tipo, intensidad y localización de los infiltrados celulares.
- la presencia ó ausencia de endotelitis, vasculitis, necrosis de coagulación, necrosis enzimática, proliferación de fibroblastos y fibrosis.

Los criterios histológicos del rechazo agudo son relativamente sencillos en los injertos sin oclusión ductal (Groth,1988); estos criterios incluyen infiltrados mixtos de neutrófilos y, preponderantemente, células mononucleares (linfocitos, plasmáticas e histiocitos) en los lóbulos pancreáticos (acinis) y epitelio ductular. La presencia de estos infiltrados en los nervios pancreáticos orienta hacia el rechazo más que hacia una pancreatitis (Sibley,1990). En la pancreatitis aguda predomina el infiltrado leucocitario polimorfonuclear.

El dato más importante en el diagnóstico del rechazo agudo es la endovasculitis (infiltración subendotelial de células mononucleares, característica del rechazo en todos los trasplantes de órganos).

La necrosis de coagulación también se ve en las complicaciones vasculares no relacionadas con rechazo, y la presencia de endotelitis y vasculitis puede ayudar a distinguir entre las dos.

La necrosis enzimática y la fibrosis se consideran inespecíficas.

Al igual que en otros estudios experimentales (Carpenter y cols., 1989), en el nuestro los infiltrados celulares mixtos fueron el dato histológico más característico, viéndose en todos excepto un injerto.

La presencia de células inflamatorias crónicas alrededor de los conductos pancreáticos fue un hallazgo infrecuente, lo que ayuda a reforzar la teoría de que la inflamación periductal no sería un rasgo de rechazo sino una consecuencia de la obstrucción ductal.

La endotelitis y vasculitis fue muy infrecuente y leve en los aloinjertos funcionantes.

Una mínima necrosis de coagulación existió en aproximadamente el 60% de los injertos funcionantes.



#### V.4. PROTECCION DE LA ANASTOMOSIS PANCREATOEYUNAL MEDIANTE ADHESIVO BIOLOGICO DE FIBRINA

Estudios experimentales "in vitro" han demostrado que tanto la fibrina como el factor XIII estimulan el crecimiento de los fibroblastos (Turowski y cols., 1980), y la cantidad y calidad de éstos en el plasma humano dependen de concentraciones adecuadas de factor XIII (Beck y cols., 1961); además, en el período postoperatorio ha sido demostrada por varios investigadores una reducción del factor XIII, especialmente entre el 2º y 5º días (Kram y cols., 1988a y 1988b).

Los efectos del ABF sobre la cicatrización de los tejidos van disminuyendo con el tiempo debido a la degradación irreversible de la fibrina por el sistema fibrinolítico del propio organismo.

Debido a que la actividad fibrinolítica aumenta mucho después del trauma quirúrgico, el inhibidor de la fibrinólisis (aprotinina) del ABF permite su permanencia in situ entre 2 y 4 semanas (Kram y cols., 1988a y 1988b).

En anastomosis pancreatoyeyunales, un estudio clínico retrospectivo comparativo valora la utilidad del ABF en el reforzamiento de las anastomosis P-Y en 48 pacientes a los que se practica una duodenopancreatectomía cefálica por el mismo cirujano; en aproximadamente la mitad de los pacientes emplean un ABF, pero diferente del producto austriaco y con la variante de que no añaden aprotinina a la mezcla, con lo cual no retrasan la fibrinólisis; a pesar de ello encuentran un menor porcentaje de fístulas anastomóticas P-Y en el grupo tratado con el ABF (Tashiro y cols., 1987).

Lorenz y Domagk (1989) también han empleado el ABF en el autoinjerto pancreático segmentario en pacientes con pancreatitis crónica severa, con muy buenos resultados, superiores a la oclusión ductal con neoprene y prolamina.

En el trasplante experimental también han sido demostradas las ventajas de la oclusión ductal temporal con un ABF modificado para hacer el coágulo más estable (Zimmermann y cols., 1987).

Waclawiczek y cols. (1989) han comprobado muy recientemente, en estudios experimentales de anastomosis P-Y en cerdos y también en la clínica, que la oclusión del conducto pancreático con el ABF protege estas anastomosis, eliminando la secreción exocrina pancreática por lo menos durante 4 días; para ello utilizan concentraciones de aprotinina mucho mayores que la del preparado comercial, para evitar que el coágulo se disuelva precozmente.

En experimentos "in vitro" comprueban que, en el conducto pancreático, el coágulo de fibrina con la concentración de aprotinina del preparado comercial (3.000 UI/ml) se disuelve por fibrinólisis después de 12 horas, debido a la acción de la tripsina y activadores del plasminógeno. Por tanto, utilizan concentraciones de aprotinina de 20.000 UI/ml en su ABF modificado, con lo cual observan que el coágulo de fibrina se mantiene al menos durante 4 días, interrumpiendo la secreción exocrina. Después de la recanalización del conducto se recupera la función exocrina. Durante un seguimiento de 6 meses en el estudio experimental y hasta de 13 meses en el clínico, la función endocrina se mantuvo intacta. Recomendán, por tanto, su empleo en el trasplante segmentario de páncreas, aunque enfatizando que la oclusión con el ABF no puede reemplazar a la anastomosis ni compensar los posibles errores técnicos.

En una publicación previa demuestran también que el mero sellado de las anastomosis P-Y con el ABF puede disminuir la morbilidad (Waclawiczek y cols., 1988).

Un trabajo muy reciente en perros demuestra que la inyección del conducto pancreático con el ABF es un procedimiento seguro que suprime la secreción exocrina durante el período postoperatorio crítico (Florack y cols., 1991).

En nuestro trabajo no hemos podido realizar la oclusión ductal con un ABF con altas concentraciones de aprotinina, por disponer sólo del preparado comercial. Debido a la rápida disolución del coágulo de fibrina por la acción del jugo pancreático, es de suponer que los efectos de esa oclusión ductal temporal han sido irrelevantes en los 2 animales en los que se realizó.

Sin embargo, en el grupo en el que se realizó el "sellado" de la anastomosis pancreatoyeyunal con el ABF no observamos ningún caso de peritonitis ni evidencia clara de fístula anastomótica, en contraposición con los grupos I (control) y II (tratado también con SMS-201-995, pero sin ABF).

El ABF ha sido también aplicado al cerdo en otros dos estudios experimentales. En uno de ellos se comprueban los buenos resultados del ABF en anastomosis cólicas (Galletti y cols., 1984), y en el otro se hace un estudio comparativo en anastomosis de intestino delgado con sutura en 2 planos ó con ABF sin sutura; en este último estudio se demuestra que la presión ó fuerza de ruptura de la anastomosis a la semana era similar en los dos grupos (Hjortrup y cols., 1986).

Unos estudios experimentales muy recientes con anastomosis cólicas en ratas cuestionan, sin embargo, la utilidad del ABF (Houston y cols.,1988; Haukipuro y cols.,1988; Van der Ham y cols.,1991).

Houston y cols. evalúan su utilidad en un estudio comparativo en 162 ratas, sometiendo a un grupo a tratamiento con corticoides para convertirlas en anastomosis cólicas de alto riesgo; encuentran que el ABF no sólo no protege las anastomosis (no aumenta la presión de disrupción anastomótica) sino que predisponía a la aparición de abscesos.

Schwartz y cols.(1992) no encuentran, sin embargo, esta predisposición a abscesos en la aplicación tópica intraperitoneal del ABF, siempre que se administren antibióticos por vía sistémica.

Algunos estudios han demostrado que el crecimiento bacteriano en el adhesivo solidificado es de 10 a 100 veces más lento que en un coágulo fisiológico comparable (Bösch y cols.,1982), y su uso no aumenta el riesgo de reinfección cuando se aplica en tejidos infectados (Bösch y cols.,1981).

Sin embargo, este es un tema controvertido, porque la aplicación del ABF lo que hace es aumentar mucho el depósito de fibrina en la herida, y, en estas circunstancias, otros trabajos han demostrado que la fibrina parece proporcionar un caldo de cultivo privilegiado para la proliferación bacteriana, protegido de las defensas del organismo, lo que conduce a la formación de abscesos (Ahrenholz y cols.,1980; Dunn y cols.,1984; Rotstein y cols.,1986; Dubrow y cols.,1991).

Esta proliferación bacteriana junto con macrófagos y neutrófilos, todos ellos fuentes de enzimas proteolíticos incluyendo collagenasa, pudiera

ser incluso responsable de una mayor degradación del colágeno y consiguiente debilidad de la anastomosis (Van der Ham y cols., 1991).

Así, Ahrenholz y Simmons (1980), en un modelo experimental de peritonitis en la rata, sugieren que la fibrina puede ser tanto beneficiosa como perjudicial en la sepsis intraperitoneal. Aunque la fibrina atrapa bacterias, disminuyendo así la incidencia de muerte por septicemia, los gruesos depósitos de fibrina representan una barrera a la penetración de los neutrófilos, resultante en la formación de abscesos. La extirpación operatoria de la fibrina previene los abscesos incluso después del establecimiento de la peritonitis. Este mismo grupo ha confirmado, mediante experimentos "in vitro", que la fibrina a concentraciones fisiológicas impide la normal fagocitosis bacteriana por los neutrófilos (Rotstein et al., 1986).

También ha sido demostrado que la llegada de macrófagos a un gel de fibrina se ve dificultada si hay una alta concentración de fibrina, y esta dificultad se ve acentuada si hay altas concentraciones de trombina (Ciano y cols., 1986)); además, puesto que el ABF procede de fibrinógeno humano, es posible que la fibrina pueda actuar como cuerpo extraño en la rata u otros animales, estimulando una reacción inflamatoria local conducente a una cicatrización defectuosa.

También es posible que el ABF pueda actuar de barrera física al proceso natural de cicatrización, pues equivaldría a envolver la anastomosis con plástico, lo que se ha demostrado que dificulta la cicatrización (Canalis y cols., 1968).

Ultimamente se han añadido diversos antibióticos al ABF, en experimentos "in vitro", demostrándose un significativo efecto antibacteriano (Kram y cols., 1991).

#### V.5. "INTESTINALIZACION" DEL INJERTO PANCREATICO

Como se ha comentado en la Introducción, esta técnica experimental surge en un intento de disminuir la elevada morbilidad de los Autoinjertos pancreáticos heterotópicos tras resecciones pancreáticas masivas por pancreatitis crónica.

Los resultados de supervivencia obtenidos en el modelo de pancreatitis letal en el perro fueron ciertamente espectaculares, proporcionando la bolsa intestinal un eficaz mecanismo de drenaje de todas las secreciones, exudados, linfa y restos necróticos consecuencia de la pancreatitis y productores de shock letal (Senninger y cols., 1987).

Estos autores demuestran además la viabilidad y normal funcionamiento, en un seguimiento de un año, de esos segmentos pancreáticos vascularizados "intestinalizados" (Senninger y cols., 1985).

Consideran que la técnica puede ser útil para el trasplante pancreático, puesto que además la glándula puede ser accesible a través de una enterostomía y la reintervención no sería necesaria en caso de fallo del injerto (necrosis, pancreatitis) ó rechazo.

De alguna manera la "intestinalización parcial" del páncreas se viene practicando ya en algunas anastomosis pancreaticoyeyunales; así, la técnica del telescopaje no es más que un intento de proteger esa siempre delicada anastomosis "invaginando" un segmento de parénquima dentro de la luz intestinal; algo similar ocurre con alguna variante de la técnica de Puestow.

Sin embargo, esta "intestinalización parcial" no protege de las secreciones, exudados, linfa y restos necróticos consecuencia de la inflamación aguda y severa de la glándula.

Bunzendahl y cols., 1987, han evaluado la técnica en un modelo de Auto. y Aloinjertos pancreáticos segmentarios en perros, demostrando que la "intestinalización" correcta del injerto puede prevenir la muerte por pancreatitis ó necrosis del injerto. De los 7 Aloinjertos que realizan, sin inmunosupresión, 4 sufren necrosis falleciendo sólo el animal cuyo injerto no estaba bien intestinalizado; los otros 3 Aloinjertos son rechazados alrededor de la semana postoperatoria, comprobándose la típica hinchazón a través del estoma con un rectoscopio pediátrico.

Por razones anatómicas y técnicas no hemos podido realizar la "bolsa" con intestino delgado en nuestro modelo animal.

En el minipig la raíz del mesenterio es corta y la vascularización del intestino delgado es completamente radial, sin arcadas marginales, lo que dificulta mucho las maniobras de descenso, hasta fosas ilíacas, de segmentos intestinales bien vascularizados; además, existe desproporción entre el pequeño calibre de las asas y el buen tamaño del páncreas, lo que obliga a la construcción de una bolsa con más de dos asas, complicando mucho el modelo.

Por el contrario, el ciego del animal tiene una gran capacidad y baja bien hasta fosa ilíaca izquierda con algunas maniobras de despegamiento, y ello viene favorecido por la disposición del colon porcino en doble hélix, con las porciones ascendente y descendente unidas y situadas en hemiabdomen izquierdo. Además, al tratarse de una "bolsa intestinal" natural se simplifica mucho la técnica quirúrgica.

La utilización de segmentos intestinales, concretamente del ciego, con fines reconstructivos ó de reservorio no es nueva en la clínica, habiéndose empleado desde principios de siglo, por ejemplo, en reconstrucciones vaginales (Turner-Warwick y cols.,1990).

El último segmento del íleon terminal no ha podido utilizarse como drenaje natural de las secreciones del injerto "intestinalizado", al tener este animal una válvula ileocecal muy desarrollada y competente; debido a ello, una vez aislada la bolsa cecal y restablecida la continuidad ileocólica, hemos procedido al drenaje de la bolsa mediante una anastomosis entero-cecal en Y de Roux, evitando así la anastomosis directa pancreatoyeyunal.

Nuestros animales con Aloinjerto pancreático "intestinalizado" (Grupo IV) mostraron, al sacrificio, una sorprendente ausencia de complicaciones sépticas y colecciones intraabdominales, en relación a los otros grupos. En 4 de los 5 animales evaluables el Aloinjerto se encontraba bien "intestinalizado", y no existía evidencia macroscópica alguna de la necrosis periinjerto observada en los otros grupos. El otro animal tenía el injerto sólo parcialmente "intestinalizado" y presentaba un absceso y una colección líquida intraabdominal, confirmando así que la correcta colocación y fijación de la bolsa reviste una importancia crítica (Bunzendahl y cols.,1987).

Desde el punto de vista macroscópico, los injertos "intestinalizados" aparecían recubiertos por una fina membrana fácilmente separable del parénquima glandular y de la mucosa intestinal.

En relación al grado de pancreatitis histológica, también este grupo IV fue el que menos necrosis enzimática y fibrosis tuvo.



Así pues, la bolsa intestinal parece proteger, de alguna manera, del desarrollo de complicaciones sépticas y pancreatitis severas postrasplante, a pesar de que la técnica implica una anastomosis adicional (la ileocólica) y un teórico punto débil, alrededor del pedículo vascular del injerto.

Esta protección se realizaría al proporcionar un eficaz sistema de drenaje de la secreción exocrina y exudados peripancreáticos, como afirman Senninger y cols.(1987), y tal vez coadyuvado por las propiedades de absorción de la mucosa colocecál.

El corto seguimiento postrasplante, en nuestro modelo, ha impedido una valoración, a medio plazo, de las posibles alteraciones glandulares del injerto "incluido" en ese segmento colónico, así como de las eventuales alteraciones de la mucosa cecal por la acción de una secreción exocrina teóricamente ininterrumpida. Sin embargo, sí podemos afirmar que esta técnica ha disminuido de manera sorprendente las complicaciones sépticas intraabdominales precoces.

## **VI. CONCLUSIONES**

1. El cerdo no es un animal de experimentación adecuado para un modelo de autoinjerto pancreático . La arteria pancreática del cuerpo-cola proviene de la arteria hepática común en una mayoría de animales, lo que obliga a su sección; esto introduce variables de complejidad técnica que hacen a este modelo animal "económicamente" poco rentable, en contraposición al perro.

2. Con la salvedad de la peculiar irrigación del segmento corporo-caudal, la vascularización del páncreas porcino presenta muy pocas variantes anatómicas, y ciertamente menores que las descritas en el perro. El tipo III de la clasificación de Florack (arteria pancreática desde la mesentérica superior), muy frecuente en el modelo canino, sólo estaba presente en 3 de los 125 animales estudiados.

3. La revisión bibliográfica realizada en relación al problema vascular en el trasplante experimental, fundamentalmente en el perro, pone de relieve la gran confusión existente todavía en cuanto a la(s) causa(s) de las trombosis y los mecanismos y técnicas necesarios para evitarlas.

A la luz de los resultados de viabilidad de este modelo de aloinjerto, en el modelo porcino no parecen necesarias las técnicas de fístulas A-V ni interposiciones vasculares.

4. En este modelo animal el aloinjerto segmentario con drenaje a intestino delgado tiene un porcentaje importante de complicaciones sépticas intraabdominales precoces.

5. La administración profiláctica del análogo de somatostatina, acetato de octreótido, no ha reducido de forma significativa estas complicaciones sépticas, respecto al grupo control.

6. Aunque la serie es corta, los datos sugieren que el "sellado" de la anastomosis pancreatoyeyunal con el adhesivo biológico de fibrina puede disminuir el porcentaje de fistulas anastomóticas.

7. La técnica de "intestinalización" empleada redujo de manera clara las complicaciones sépticas intraabdominales, evitando por completo el desarrollo de necrosis periinjerto.

8. La pancreatitis moderada del injerto parece un fenómeno constante e inevitable, habiéndose comprobado el nulo efecto profiláctico del acetato de octreótido sobre esta pancreatitis.

La administración del análogo de SMT no influyó sobre los parámetros bioquímicos de pancreatitis del injerto, ni tampoco en los hallazgos macroscópicos ni histológicos.

Los parámetros de funcionamiento endocrino de los injertos (glucemia e insulinemia) tampoco se han visto afectados, a excepción de unos valores "K" discretamente más elevados en los animales tratados con el análogo de somatostatina.

9. No se ha apreciado, con la administración del análogo, la potenciación del efecto inmunosupresor de la ciclosporina A ni de los efectos tóxicos de este fármaco descritos en algunos trabajos, aunque el período de seguimiento postoperatorio ha sido muy corto.

## VII. BIBLIOGRAFIA

AGNES S., MAGALINI S.C., SERINO F., FOCO M., CASTAGNETO M. Pancreatic transplantation with double arterial and venous bridge anastomosis: a technique to avoid vascular thrombosis. *Transplant. Proc.* 1987; 19:1004-1007.

ARENHOLZ D.H., SIMMONS R.L. Fibrin in peritonitis. I. Beneficial and adverse effects of fibrin in experimental E. coli peritonitis. *Surgery* 1980; 88:41-47.

AIGNER A., KÖNIGSRÄINER A. , STEINER E., SCHMID T., AULITZKY W., KLIMA G., MARGREITER R. Delayed duct occlusion - a new technique of pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1987; 19:3908.

ALLEN R.D.M., CHAPMAN J.R., HAWTHORNE W.J., PEARL T.A., WILSON T.G., LAU H., LAWRENCE S., HARRIS D.C., STEWART J.H. Advantages and disadvantages of pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1992; 24:171-172.

ARIDGE D., REESE J., NIEHOFF M., CARNEY K., LINDSEY L., CHUN H.S., GEORGE E., GARVIN P. Effect of successful renal and segmental pancreatic transplantation on peripheral and autonomic neuropathy. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1670-1671.

ASHIKARI H., DREILING D.A. Physiologic studies on the heterotopic autotransplanted canine pancreas. *Am. J. Gastroenterol.* 1968; 49:235-240.

ASTORGA JIMENEZ R. Análogo de la somatostatina: perspectivas actuales y futuras. *Med. Clin (Barc)* 1989; 93:508-515.

AUGELLI M.V., HUSSAIN S.M., McKAIN M.M., FIETSAW R., BIEREMA T., FEGLEY M., BENDICK P., VILLALBA M., LUCAS R., GLOVER J.L. Effect of SMS 201-995(a long-acting somatostatin analog) on bile-induced acute hemorrhagic pancreatitis in the dog. *Am. Surgeon* 1989; 55:389-391.

BACH S., TYDEN G., GROTH C.G. Patient decision-making for pancreatic transplantation. *Transplant. Proc.* 1988; 20:481-484.

BASADONNA G., MONTORSI F., KAKIZAKI K., MERRELL R.C. Cyclosporin A and islet function. *Am. J. Surg.* 1988; 156:191-193.

BASADONNA G., FOX U., RIBALDONE G., LANZETTA M., CORTI D., ELLI A., PALAZZI P., QUARTO DI PALO F., CREMAGNANI L., CANTALANESSA L., MONTORSI W. The use of SMS 201-995, a somatostatin analog, in pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1990; 22:602-603.

BAUMGARTNER D., SUTHERLAND D.E.R., HAJARIAN J.S. Studies on segmental pancreas autotransplants in dogs: technique and preservation. *Transplant. Proc.* 1980; 12(Suppl 2):163-171.

BAUMGARTNER D., SUTHERLAND D.E.R., HEIL J. Long-term canine segmental pancreas transplants with the duct left open, neoprene injected duct and pancreaticoureterostomy: A comparative study. *Transplant. Proc.* 1981; 13:812-814.

BAUER W., BRINER U., DOEPFNER W., HALLER R., HUGUENIN R., MARBACH P.,  
PETCHER T.J., PLESS J. SMS 201-995: a very potent and selective  
octapeptide analogue of somatostatin with prolonged action. *Life Sci.*  
1982; 31:1133-1140.

BAXTER J.M., JENKINS S.A., DAY D.W. Effects of somatostatin and a long  
acting somatostatin analogue on the prevention and treatment of  
experimentally induced acute pancreatitis in the rat. *Br. J. Surg.* 1985;  
72:382-385.

BECK E., DUCKERT F., ERNST M. The influence of fibrin stabilizing factor  
on the growth of fibroblasts in vitro and wound healing. *Thrombos.*  
*Diathes. Haemorrh. (Stuttgart)* 1961; 6:485-491.

BERGAN J.J., HOEHN J.G., PORTER N., DRY L. Total pancreatic allografts  
in pancreatectomized dogs. *Arch. Surg.* 1965; 90:521-526.

BENTLEY F.R., JUNG S., GARRISON R.M. Neuropathy and psychosocial  
adjustment after pancreas transplant in diabetics. *Transplant. Proc.*  
1990; 22:691-695.

BODEN G., SIVITZ M.C., OWEN O.E., KSSA-KOUMAR N., LANDOR J.H.  
Somatostatin suppresses secretin and pancreatic exocrine secretion.  
*Science* 1975; 190:163-165.

BOLINDER J., VAHRENBERG H., LINDE B., TYDEN G., GROTH C.G., ÖSTMAN J.  
Improved glucose counterregulation after pancreas transplantation in



diabetic patients with unawareness of hypoglycemia. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1667-1669.

BORGSTRÖM A., MARKS W.H., DAFOE D.C., CAMPBELL D.A., TURCOTTE J.G. Immunoreactive anionic and cationic trypsins in serum after experimental porcine pancreatic transplantation. *Surgery* 1986; 100:841-849.

BÖSCH P. Die fibrinspongiosaplastik. Experimentelle untersuchungen und klinische erfahrung. *Wien. Klin. Wschr.* 1981; 93(Suppl 124):1-26.

BÖSCH P., ARBES H., LINTNER F., RAMACH W. Erfahrungen mit der fibrin-spongiosaplastik. In: *Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie*. 4. Heidelberger Orthopädie-Symposium, H. Cotta/A. Braun (eds.), Georg Thieme Verlag, 1982; 84-85.

BOUDREAU J.P., NEALON W.H., CARSON R.C., FISH J.C. Pancreatitis necessitating urinary undiversion in a bladder-drained pancreas transplant. *Transplant. Proc.* 1990; 22:641-642.

BOUDREAU J.P., NEALON W.H., CARSON R.C., FISH J.C. Pancreas transplantation. A new program. *Am. Surgeon* 1991a; 57:114-117.

BOUDREAU J.P., CORRY R.J., DICKERMAN R., SUTHERLAND D.E.R. Combined experience with immediate pancreas retransplantation. *Transplant. Proc.* 1991b; 23:1628-1629.

BREKKE I.B., NORSTEIN J. Pancreatic transplant revascularization by dual arterial anastomoses. *Transplant. Proc.* 1987; 19:3874-3875.

BROWS I.G.M., CALNE R.Y. Pancreas transplantation at Cambridge: more than 10 years of experience at the cyclosporine era. *Transplant. Proc.* 1991; 23:2215-2216.

BROOKS J.R. Presidential address : Where are we with pancreas transplantation? *Surgery* 1989; 106:935-945.

BUNZENDAHL H., PICHLMAYR R., GARCIA-GALLOTT R., BEERMANN M., RIEKE C. Segmental pancreas transplantation into an intestinal pouch: a promising approach. *Transplant. Proc.* 1987; 19:1017-1018.

BURKE G.W., SUTHERLAND D.E.R., MAJARIAN J.S. Intraabdominal fluid collections in pancreas transplant recipients: bladder versus enteric drainage. *Transplant. Proc.* 1988; 20(Suppl 1):887-888.

BURKE G.W., GRUENNER R., DUNN D.L., SUTHERLAND D.E.R. Conversion of whole pancreaticoduodenal transplants from bladder to enteric drainage for metabolic acidosis or dysuria. *Transplant. Proc.* 1990; 22:651-652.

CALNE R.Y., MCMASTER P., ROLLES K., DUFFY T.J. Technical observations in segmental pancreas allografting: observations on pancreatic blood flow. *Transplant. Proc.* 1980; 12:51-57.

CAMBRIA R.P., NEVILLE R., BALLANTYNE G.H., ZDON M.J., ZUCKER K.A., ADRIAN T.E., MODLIN I.M. Somatostatin and analogs lack splanchnic vasoconstrictive effects in anesthetized pigs. J. Surg. Res. 1987; 43:452-459.

CANALIS F., RAVITCH M.M. Study of healing of inverting and everting intestinal anastomoses. Surg. Gynecol. Obstet. 1968; 126:109-114.

CARPENTER H.A., BARR D., MARSH C.L., MILLER A.R., PERKINS J.D. Sequential histopathologic changes in pancreaticoduodenal allograft rejection in dogs. Transplantation 1989; 48:764-768.

CASTANEDA M.A., GARVIN P.J., CARNEY K., HOFF J., ARIDGE D. Evolution of synchronous renal and segmental pancreatic transplantation into a therapeutic modality. Transplant. Proc. 1988; 20(Suppl 1):878-880.

CIANO P.S., COLVIN R.B., DVORAK A.M., McDONAGH J., DVORAK H.F. Macrophage migration in fibrin gel matrices. Lab. Invest. 1986; 54:62-70.

COLLIN J. Current state of transplantation of the pancreas. Ann. R. C. Surg. Engl. 1978; 60:21-27.

Committee of Laboratory Animal Facilities and Resources. Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences. National survey of laboratory animal facilities and resources. Washington, D.C.N.I.H. publication № 80-2091, March 1980.

COOPER M.M., WRIGHT F.H., SMITH J.L., CORRY R.J. Successful treatment of a high-output fistula with a somatostatin analogue following pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1989; 21:3738-3741.

CORRY R.J., WRIGHT F.H., SMITH J.L. Whole organ pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1988; 20:420-425.

CORRY R.J. Status report on pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1991; 23:2091-2094.

CUTFIELD R.G., KYRIAKIDES G.K., OLSON L., CONDIE R.M., MINTZ D.H., MILLER J. Late observations of canine segmental pancreatic autografts. *Transplant. Proc.* 1984; 16:762-763.

CHARTRAND C., DUMONT L., STANLEY P. Value of fibrin sealant in heart transplantation. *Transplant. Proc.* 1989; 21:3347-3348.

DAFOE D.C., CAMPBELL D.A., MARKS W.H., BORGSTROM A., LLOYD R.V., TURCOTTE J.G. Association of inclusion of the donor spleen in pancreaticoduodenal transplantation with rejection. *Transplantation* 1985; 40:579-584.

DAFOE D.C., CAMPBELL D.A., MARKS W.H., BORGSTROM A., LICHTER A.S., TURCOTTE J.G. The effect of irradiation of the donor spleen on rejection of porcine pancreaticoduodenosplenic allografts. *Transplantation* 1986; 42:686-687.

DAFOE D.C., ROSENBERG L., CAMPBELL D.A., MERION R.M., LICHTER A.S., TURCOTTE J.G. Clinical pancreaticoduodenal allotransplantation with inclusion of the donor spleen(irradiated and nonirradiated) to prevent thrombosis. *Transplant. Proc.* 1988; 20(Suppl.1):876-877.

DAFOE D.C., CAMPBELL D.A., ROSENBERG L., MERION R.M., UCROS I., VINIK A.I., KLANDORF H., TURCOTTE J.G. No improvement of pancreas transplant endocrine function by exogenous insulin infusion (islet rest) in the postoperative period. *Transplantation* 1989; 48:22-26.

DALOZE P., BEAUREGARD H., ST. LOUIS G., CORNAN J., SMEESTERS C., ARIS-JILVAIN N., CONTOIS R., RASIO E. Clinical pancreas transplantation: a learning curve of its management. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2858-2861.

DCCT RESEARCH GROUP. Epidemiology of severe hypoglycemia in the diabetes control and complications trial. *Am. J. Med.* 1991; 90:450-459.

DECURTINS M., SCHLUMPF R., BAUNGARTNER D., LARGIADER F. Three-year experience with delayed duct occlusion in intraperitoneal pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1987; 19:3939-3940.

DEJODE L.R., HOWARD J.M. Studies in pancreaticoduodenal homotransplantation. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1962; 114:553-558.

DELMONICO F.L., JENKINS R.L., AUCHINCLOSS H., ETIENNE T.J., RUSSELL P.S., MONACO A.B., COSINI A.B. Procurement of a whole pancreas and liver from the same cadaveric donor. *Surgery* 1989; 105:718-723.

DEL POZO E., NEUFELD M., SCHLÜTER K., TORTOSA F., CLARENBACH P., BIEDER E., WENDEL L., NUESCH E., MARBACH P., CRAMER H., KERP L. Endocrine profile of a long-acting somatostatin derivative SMS 201-995. Study in normal volunteers following subcutaneous administration. *Acta Endocrinol.* 1986; 111:433-439.

DICKERMAN R.M., TWIEST M.W., CRUDUP J.W., TURCOTTE J.G. Transplantation of the pancreas into a retroperitoneal jejunal loop. *Am. J. Surg.* 1975; 129:48-54.

DI COSTANZO J., CANO H., MARTIN J. Somatostatin in persistent gastrointestinal fistula treated by total parenteral nutrition. *Lancet* 1982; 2:338-339.

DIEPERINK H., LEYSSAC P.P., STARKLINT H., KEMP E. Cyclosporine A administration : once a day or in fractional doses?. *Transplant. Proc.* 1988; 20:703-706.

DUBERNARD J.M., TRAEGER J., MEYRA P., TOURAINE J.L., TRANCHANT D., BLANC-BRUNAT N. A new method of preparation of segmental pancreatic grafts for transplantation: trials in dogs and in man. *Surgery* 1978; 84:633-639.

DUBERNARD J.M., SANSEVERINO R., MARTINENGHI S., MARTIN X., MARECHAL J.M., CAMOZZI L., MELANDRI M., GELET A., LEFRANCOIS M., TOURAINE J.L. Duct obstruction of segmental grafts in pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2799-2800.

DUBROW T., SCHWARTZ R.J., McKISSOCK J., WILSON S.E. Effect of aerosolized fibrin solution on intraperitoneal contamination. *Arch. Surg.* 1991; 126:80-83.

DUNN D.L., ROTSTEIN O.D., SIMMONS R.L. Fibrin in peritonitis. IV. Synergistic intraperitoneal infection caused by *Escherichia coli* and *Bacteroides fragilis* within fibrin clots. *Arch. Surg.* 1984; 119:139-144.

DUNN D.L., MOREL P., SCHLUMPF R., MAYORAL J.L., GILLINGHAM K.J., MOUDRY-MUNNS K.C., KROM R.A.F., GRUESNER R.W.G., PAYNE W.D., SUTHERLAND D.E.R., NAJARIAN J.S. Evidence that combined procurement of pancreas and liver grafts does not affect transplant outcome. *Transplantation* 1991; 51:150-157.

DURON J.J., DUTET D., IMBAUD P., ROUX J.M., VALIDIRE P., VALIDIRE L. Autotransplantation hétérotopique segmentaire du pancréas avec anastomose digestive chez le chien. *J. Chir. (Paris)* 1986; 123:639-643.

DURON J.J., ROUX J.M., IMBAUD P., DESSANGES J.F., CHAUVEAU M., MANEGLIA R., VALIDIRE J. The arteriovenous fistula in segmental pancreatic transplantation in dogs - A hemodynamic study. *Transplantation* 1987; 44:600-601.

DU TOIT D.F., REECE-SMITH H., MCSHANE P., DENTON T., MORRIS P.J. A successful technique of segmental pancreatic autotransplantation in the dog. *Transplantation* 1981; 31:395-396.

DU TOIT D.F., HEYDENRYCH J.J., LOUW G., ZOURMOND T., ELS D., WOLFE-COOTE S., LAKER L. Intraperitoneal transplantation of vascularized segmental pancreatic autografts without duct ligation in the primate. *Surgery* 1983; 94:471-477.

DU TOIT D.F., HEYDENRYCH J.J., SMIT B., LOUW G., ZOURMOND T., LAKER L., ELS D., WEIDEMAN A., WOLFE-COOTE S., VAN DER MERVE E.A., GROENEWALD W.A. Segmental pancreatic allograft survival in baboons treated with combined irradiation and cyclosporine: a preliminary report. *Surgery* 1985; 97:447-454.

DYCK W.P., TEXTER E.C., LASATER J.M., HIGHTOWER M.C. Influence of glucagon on pancreatic exocrine secretion in man. *Gastroenterology* 1970; 58:532-539.

EKBERG H., ALLEN R.D.M., GREENBERG M.L., HAWTHORNE W.J., EARL M., GRIERSON J.M., WILLIAMSON P., DEANE S.A., STEWART G.J., LITTLE J.M. Early diagnosis of rejection of canine pancreas allografts by fine-needle aspiration biopsy. *Transplantation* 1988a; 46:485-489.

EKBERG H., DEANE S.A., WILLIAMSON P., HAWTHORNE W.J., GRIERSON J.M., EASTMAN CH.J., STEWART G.J., LITTLE J.M. Long-term duct-occluded segmental pancreatic autografts. Does fibrosis lead to graft loss?. *Transplantation* 1988b; 46:21-25.

EKBERG H., ALLEN R.D.M., GREENBERG M.L., HAWTHORNE W.J., EARL M.J., ALLWRIGHT S.J., WILLIAMSON P., STEWART G.J., DEANE S.A., LITTLE J.M.



Percutaneous fine needle aspiration biopsy of canine pancreas allograft provides diagnosis of treatable rejection. *J. Surg. Res.* 1989; 47:348-353.

ELEFThERiADiS E., TZARTiNOGLOU E., KOTZAMPASSI K., ALETRAS H. Early endoscopic fibrin sealing of high-output postoperative enterocutaneous fistulas. *Acta Chir. Scand.* 1990; 156:625-628.

ELLIOT D.W., WILLIAMS R.D., ZOLLINGER R.M. Alteration in the pancreatic resistance to bile in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am. Surg.* 1957; 146:669-674.

ESMATJES E., FERNANDEZ CRUZ L., RICART M.J., OPPENHEIMER F., CASANITJANA R., ASTUDILLO E., SAENZ A., LLOVERA J.M. Urinary C-peptide excretion in pancreas transplantation with urinary drainage. *Transplant. Proc.* 1990; 22:1598-1599.

ESMATJES E., ADAM A., RICART M.J., OPPENHEIMER F., SAENZ A., LOPEZ-BOADO M.A., ASTUDILLO E., FERNANDEZ-CRUZ L. Long-term evolution of diabetic retinopathy and renal function after pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1992; 24:12-13.

FERNANDEZ CRUZ L., ASTUDILLO E., SANFELY H., LLOVERA J.M., SAENZ A., LOPEZ-BOADO M.A., BAGUR C. Combined whole pancreas and liver retrieval : a new technique for arterial reconstruction of the pancreas graft. *Br. J. Surg.* 1992; 79:239-240.

FILIPPONI F., MESSORI A., VALENZA T., FABBRI L.P., FALCINI F.  
Bioavailability of intramuscular ciclosporin in the pig. *Eur. Surg. Res.*  
1990; 22:14-18.

FLORACK G., SUTHERLAND D.E.R., CAVALLINI M., MAJARIAN J.S. Technical  
aspects of segmental pancreatic autotransplantation in dogs. *Am. J.*  
*Surg.* 1983; 146:565-574.

FLORACK G., ASCHERL R., BISSFELDT U., DAAS V., BOTTERMANN P., BLÜMEL G.  
Results after transplantation of canine pancreatic grafts with preserved  
exocrine drainage. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2818-2819.

FLORACK G., ERHARDT W., DAAS V., BISSFELDT U., ASCHERL R., BLÜMEL G.  
Temporary or permanent suppression of exocrine secretion in canine  
pancreatic grafts. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1674-1675.

FREEMAN D.J., LIPOHAR C., KREFT J., GRANT D.R. Pharmacokinetics of  
cyclosporine in the weanling pig. *Transplantation* 1990; 50:892-893.

FRIEDMAN A.L., KAHNG K.U., MONACO D.O., ROSEN B.D., WAIT R.B.  
Cyclosporine nephrotoxicity in conscious sheep. *Transplant. Proc.* 1988;  
20:595-602.

FUJINO Y., KURODA Y., SUZUKI Y., FUJIWARA H., KAWAMURA T., MORITA A., KU  
Y., SAITOH Y. Preservation of canine pancreas for 96 hours by a  
modified two-layer (UW solution/perfluorochemical) cold storage method.  
*Transplantation* 1991; 51:1133-1135.

GALLETTI G., GIARDINO R., USSIA G., BRULATTI M., BELLINI R., RUSCELLI P.  
Sutureless colon anastomosis employing a tissue adhesive (Tissucol)  
(abstr). *Digestive Surgery* 1984; 1:128.

GÄNGER K.H., METTLER D., HÖFLIN F., RUCHTI CH., MINNIG E., BÖSS H.P.,  
SCHILT W. Experimental pancreaticosplenic composite transplantation in  
the pig. Operative technique and assessment of graft function. *Eur.  
Surg. Res.* 1987a; 19:323-328.

GÄNGER K.H., METTLER D., BÖSS H.P., RUCHTI C., STOFFEL M., SCHILT W.  
Experimental duodeno-pancreatico-renal composite transplantation: a new  
alternative to avoid vascular thrombosis?. *Transplant. Proc.* 1987b;  
19:3960-3964.

GARVIN P.J., NIEHOFF M., STAGGENBORG J. Cyclosporine's effect on canine  
pancreatic endocrine function. *Transplantation* 1988; 45:1027-1031.

GARVIN P.J., NIEHOFF M., BURTON F. The effect of Dimethyl PGE<sub>2</sub> on canine  
pancreatic autograft exocrine secretion. *J. Surg. Res.* 1989; 46:502-506.

GARVIN P.J., BURTON F.R., REESE J.C., LINGLE D., PANDYA P.K., NIEHOFF  
M.L. The effect of octreotide acetate on meal stimulated exocrine  
secretion in canine pancreatic autografts. *Transplantation* 1991; 52:453-  
457.

GEBHARDT C., STOLTE M. Pankreasgang-okklusion durch injektion einer schnell härtenden aminosäurenlösung. *Langenbecks Arch. Chir.* 1978; 346:149.

GEORGI B.A., DEMPSEY R.A., CORRY R.J. Interleukin-2 assay in serum and urine as a means of monitoring pancreatic allograft rejection. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2784-2785.

GETTY R. The anatomy of domestic animals. In Sisson and Grossman : The anatomy of domestic animals. Philadelphia : Saunders, 1975; 1327.

GIL-VERNET J.M., FERNANDEZ CRUZ L., ANDREU J., FIGUEROLA D., CARALPS A. Clinical experience with pancreaticopyelostomy for exocrine pancreatic drainage and portal venous drainage in pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1985a; 17:342-345.

GIL-VERNET J.M., FERNANDEZ CRUZ L., CARALPS A., ANDREU J., FIGUEROLA D. Whole organ and pancreaticoureterostomy in clinical pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1985b; 17:2019-2022.

GILABERT R., BRU C., RICART M.J., ASTUDILLO E., SAEIZ A., LLOVERA J.M., LOPEZ-BOADO M.A., SANFEY H., FERNANDEZ-CRUZ L. Pancreatic transplant rejection: evaluation by duplex-doppler ultrasound with urinary amylase monitoring correlation. *Transplant. Proc.* 1992; 24:11.

GILSANZ PERAL A., COSTA TALENS P., GOMEZ BALAGUER M. Utilidad del análogo de la somatostatina SMS 201-995 en el tratamiento del gastrinoma. Med. Clin. (Barc) 1987; 89:131-132.

GILSANZ PERAL A., GOMEZ BALAGUER M., COSTA TALENS P. Manejo del insulinoma con el análogo de la somatostatina SMS 201-995. Med. Clin. (Barc) 1988; 90:634-635.

GIMENO FORMER L., CEJALVO LAPEÑA D., BOLANT HERNANDEZ B., CALVO BERMUDEZ M.A., TODOLI FAUBELL J., LLORIS CARSI J.M. Etica y legislación en los animales de laboratorio. Res. Surg. 1989; (Supl.3):18-28.

GLOVER W., CHAVIS T.V., DANIEL T.M., KRON I.L., SPOTNITZ W.D. Fibrin glue application through the flexible fiberoptic bronchoscope: closure of bronchopleural fistulas. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1987; 93:470-472.

GOMEZ GUTIERREZ M., LANDA GARCIA J.I., MORENO GONZALEZ E., JOVER NAVALON J.M., CALLEJA KEMPIN J., ARIAS DIAZ J., LOINAZ SEGUROLA C., SILECCHIA G. Control de la secreción pancreática exocrina en el trasplante pancreático con somatostatina. Modelo experimental. Cir. Esp. 1988; 43:465-470.

GONVA T.A., GOEKEN M.E., SCHULAK J.A., NGHIEM D.D., CORRY R.J. Failure of cyclosporine to prevent in vivo T cell priming in man. Transplantation 1985; 40:299-304.

GOOSZEN H.G., VAN SCHILFGAARDE R., TERPSTRA J.L. Arterial blood supply of the left lobe of the canine pancreas. II. Electromagnetic flow measurements. *Surgery* 1983; 93:549-553.

GOOSZEN H.G., BOSMAN F.T., VAN SCHILFGAARDE R. The effect of duct obliteration on the histology and endocrine function of the canine pancreas. *Transplantation* 1984a; 38:13-17.

GOOSZEN H.G., BOSMAN F.T., VAN SCHILFGAARDE R. An analysis of long-term histologic changes leading to decreased endocrine function after duct obliteration of the canine pancreas. *Transplant. Proc.* 1984b; 16:776-777.

GOOSZEN H.G., VAN SCHILFGAARDE R., VAN DER BURG M.P.M., VAN LAWICK VAN PABST W.P., FRÖLICH M., BOSMAN F.T. Quantitative assessment of long-term changes in insulin secretion after canine duct-obligated pancreas transplantation. *Transplantation* 1988; 46:793-799

GRACE D.M., FEINDEL C.M.S., HARRIS K.A., INCULET R.I., WALLACE A.C., STILLER C.R. Immune response to transplanted pancreas in pigs. *Transplant. Proc.* 1982; 14:649-655.

GROTH C.G., ed. *Pancreatic Transplantation*. Philadelphia : W.B. Saunders, 1988.

GROTH C.G. Is there an indication for pancreatic transplantation? *Transplant. Proc.* 1989; 21:2757-2758.

GROTH C.G., TYDEN G., ÖSTMAN J. Fifteen years' experience with pancreas transplantation with pancreaticoenterostomy. *Diabetes* 1989; 38:13-15.

GROTH C.G., TYDEN G., TIBELL A. Why is the pancreas special?. *Transplant. Proc.* 1991; 23:2183-2185.

GRUENSWER R.V.G., TZARDIS P.J., SCHECHNER R., HEIL J., MATAS A.J., MAJARIAN J.S., SUTHERLAND D.E.R. En bloc simultaneous pancreas and kidney allotransplantation in the pig. *J. Surg. Res.* 1990; 49:366-370.

GYLLING S.F., TAUBER J.W., WARD R.E., STUART F.P., CONDIE R.M. Composite pancreas-kidney transplant in pigs. *Current Surg.* 1987; 408-410.

HAHN H.J., LAUBE F., LUCKE S., KLÖTING I., KOHNERT K.D., WARZOCK R. Toxic effects of cyclosporine on the endocrine pancreas of wistar rats. *Transplantation* 1986; 41:44-47.

HARDAWAY R.M., WILLIAMS C.H. Influence of steroids on hemorrhagic and traumatic shock. *J. Trauma* 1987; 27:667-670.

HARRIS K.A., WALLACE A.C., WALL W.J. Tolerance of the liver to ischemia in the pig. *J. Surg. Res.* 1982; 33:524-530.

HASSELGREN P. Prevention and treatment of ischemia of the liver. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1987; 164:187-196

HAUKIPURO K.A., HULKKO O.A., ALAVAIKKO M.J., LAITINEN S.T. Sutureless colon anastomosis with fibrin glue in the rat. *Dis. Colon Rectum* 1988; 31:601-604.

HAUSER C.J. Hemostasis of solid viscus trauma by intraparenchymal injection of fibrin glue. *Arch. Surg.* 1989; 124:291-293.

HELLING T.S., CHRIST D.A., REINHARDT J.R., SINNING M.A., MURPHY P.J. Segmental pancreas transplantation in the canine model: a reappraisal. *Am. J. Surg.* 1983; 146:838-843.

HENRY M.L., BOWERS V.D., FANNING V.J., SOMMER B.G., FERGUSON R.M. Cyclosporine levels are not helpful. *Transplant. Proc.* 1988; 20:419-421.

HESSE U.J., SUTHERLAND D.E.R., MAJARIAN J.S., SIMMONS R.L. Intra-abdominal infections in pancreas transplant recipients. *Ann. Surg.* 1986; 203:153-162.

HILD P., STOYANOV M., DOBROSCHKE J., AIGNER K. La somatostatine dans le traitement médical des fistules du pancréas et de l'intestin grêle. *Ann. Chir.* 1982; 36:193-196.

HJORTTRUP A., NORDKILD P., KIAERGAARD J., SJONTOFT E., OLESEN H.P. Fibrin adhesive versus sutured anastomosis: a comparative intraindividual study in the small intestine of pigs. *Br. J. Surg.* 1986; 73:760-761.



HÖHNKE C., ILLNER W.D., ABENDROTH D., SCHLEIBNER S., LANDGRAF R., LAND W. Seven-year experience in clinical pancreatic transplantation using duct occlusion technique. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2862-2863.

HORICHI H., IZUMI R., SHIMIZU K., KONISHI K., KITABAYASHI K., WATANABE T., MIYAZAKI I. Effect of 5-lipoxygenase inhibitor on canine pancreatic allotransplantation. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1679-1680.

HOUSTON K.A., ROTSTEIN O.D. Fibrin sealant in high-risk colonic anastomoses. *Arch. Surg.* 1988; 123:230-234.

IDEZUKI Y., FEEMSTER J.A., DIETZMAN R.H., LILLEHEI R.C. Experimental pancreaticoduodenal preservation and transplantation. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1968; 126:1002-1014.

IDEZUKI Y., GORTZ F.C., LILLEHEI R.C. Experimental allotransplantation of the preserved pancreas and duodenum. *Surgery* 1969; 65:485-493.

IMAI K., SATO K., TAKISHIMA T., WAKAYAMA Y., OSAKABE T., YOKOTA K., YAMAGISHI K., UCHIDA H., HIKI Y. Pancreaticoduodenal allotransplantation with the use of FK 506, cyclosporine, and triple-regimen immunosuppression. *Transplant. Proc.* 1990; 22:1655-1657.

INTERNATIONAL COMMITTEE OF MEDICAL JOURNAL EDITORS. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann. Intern. Med.* 1988; 108:258-265.

JAKOB H., CAMPBELL C.D., STENBERGER A., WRIEDT-LÜBBE I., BLUMEL G., REPLOGLE R.L. Combined application of heterologous and fibrin sealant for liver injuries. *J. Surg. Res.* 1984; 36:571-577.

JENKINS S.A., BAXTER J.M., CORBETT W.A., SHIELDS R. Effects of a somatostatin analogue SMS 201-995 on hepatic haemodynamics in the pig and on intravariceal pressure in man. *Br. J. Surg.* 1985; 72:1009-1012.

JESSEN C., SHARMA P. Use of fibrin glue in thoracic surgery. *Ann. Thorac. Surg.* 1985; 39:521-524.

JOHNSON J.L., SCHELLBERG J., MUNN S.R., PERKINS J.D. Does pancreas transplantation really improve the patient's quality of life?. *Transplant. Proc.* 1990; 22:575-576.

JOST J.O., CLEMENS M., RÜHLAND D., BÜNTE H. Somatostatin bei pankreas und dunndarmfisteln. *Zbl. Chirurgie* 1984; 109:527-531.

KALLEN R., BORGSTRÖM A., AHREN B. Urinary insulin level as an indicator of graft function after porcine pancreatic transplantation. *Transplantation* 1990; 49:1036-1039.

KALLEN R., BORGSTRÖM A. Biochemical characterization of reperfusion pancreatitis in porcine pancreatic allografts after six hours of cold storage. *Transplantation* 1991a; 51:754-759.

KALLEN R., BORGSTRÖM A., FALT K. Early indicators of allograft rejection in a porcine pancreatic transplantation model. *Eur. Surg. Res.* 1991b; 23:9-19.

KALLEN R., BORGSTRÖM A. Characterization of immunoreactive trypsin as a means of differentiating graft pancreatitis and allograft rejection after porcine pancreatic transplantation. *Transplantation* 1992; 53:25-29.

KAWAI T., TERAOKA S., FUCHINOUE S., HONDA H., NAKAJIMA I., TOJINBARA T., FUJITA S., FUJIKAWA H., AGISHI T., OTA K. The study of thrombosis after canine pancreatic transplantation. *Transplant. Proc.* 1988; 20(Suppl 1):908-909.

KAWAI T., TERAOKA S., HAYASHI T., FUCHINOUE S., HONDA H., NAKAJIMA I., SUGA H., FUJITA S., FUJIKAWA H., TAKAHASHI K., OTA K. The changes in prostaglandins after segmental pancreatic transplantation. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1645-1647.

KELLY W.D., LILLEHEI R.C., MERKEL F.K., IDEZUKI Y., GOETZ F.C. Allotransplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery* 1967; 61:827-837.

KENDALL D.M., SUTHERLAND D.E.R., NAJARIAN J.S., GOETZ F.C., ROBERTSON R.P. Effects of hemipancreatectomy on insulin secretion and glucose tolerance in healthy humans. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322:898-903.

KENNEDY W.R., NAVARRO X., GORTZ F.C., SUTHERLAND D.E.R., NAJARIAN J.S. Effects of pancreatic transplantation on diabetic neuropathy. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322:1031-1037.

KIM S., TANURA K., NAGAMI H., TERAMOTO M., MAKASE A. The effect of a distal splenic arteriovenous fistula on tissue blood flow in the pancreatic segment. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2812-2814.

KIM S., TANURA K., NAGAMI H., MAKASE A. Effect of preservation on blood flow and production of prostacyclin and thromboxane A<sub>2</sub> in canine segmental pancreatic autografts. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1651-1653.

KIVILUOTO T. Transplantation of pancreatic microfragments in totally pancreatectomized pigs. *Eur. Surg. Res.* 1985; 17:119-127.

KJAEERGAARD J., WORDKILD P., SJONTOFT E., HJORTTRUP A. Non-sutured fibrin adhesive vs. sutured anastomosis. A comparative intra-individual study in dog colon. *Acta Chir. Scand.* 1987; 153:599-601.

KLIMA G., MARGREITER R., KÖNIGSRÄINER A., STEINER E. Pancreatic juice cytology after pancreas allotransplantation. *Transplant. Proc.* 1988; 20:167-170.

KLIMA G., MARGREITER R. Pancreatic juice cytology in the monitoring of pancreas allografts. *Transplantation* 1989; 48:980-985.

KOCANDELE V., VANEK I., BARTOS V., PAVEL P. Splenic artery interposition in animal and human segmental pancreatic transplantation. *Transplant. Proc.* 1984; 16:1283-1284.

KOELZ A., KRAENZLIN M., GYR K., MEIER V., BLOOM S.R., HEITZ P., STALDER H. Escape of the response to a long-acting somatostatin analogue (SMS-201-995) in patients with VIPoma. *Gastroenterology* 1987; 92:527-531.

KÖNIGSRÄINER A., SCHMID TH., HABRINGER CH., THEN P., MARGREITER R. A new technique for venous anastomosis of pancreatic allografts. *Eur. Surg. Res.* 1990; 22:279-282.

KÖNIGSRÄINER A., DIETZE O., HABRINGER CH., KRAUSLER R., KLIMA G., MARGREITER R. Morphology of acute rejection and corresponding cytological findings in exocrine secretion after pancreas transplantation in the rat. *Transplantation* 1991; 52:770-777.

KONISHI K., WATANABE T., YABUSHITA K., HIROSAWA H., IZUMI R., MIYAZAKI I. Effect of lipooxygenase inhibitor (nordihydroguaiaretic acid, NDGA) on canine pancreatic allografts. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1681-1682.

KORSGREN O., GROTH C.G., ANDERSSON A., HELLERSTRÖM C., TIBELL A., TOLLEMAR J., BOLINDER J., ÖSTMAN J., KUMAGAI M., MÖLLER E., BJÖRNSDORFF A. Transplantation of porcine fetal pancreas to a diabetic patient. *Transplant. Proc.* 1992; 24:352-353.

KÖVEKER G. Clinical application of fibrin glue in cardiovascular surgery. *Thorac. cardiovasc. Surgeon* 1982; 30:228-229.

KOYAMA I., WILLIAMS M., CAMERON J.L., ZUIDEMA G.D. Experimental pancreatic allotransplantation in large animals. The role of donor kidney and cyclosporine in modifying rejection. *Transplantation* 1986; 42:333-336.

KRAM H.B., SHOEMAKER W.C., HINO S.T., HARLEY D.P. Splenic salvage using biologic glue. *Arch. Surg.* 1984; 119:1309-1311.

KRAM H.B., GARCES M.A., KLEIN S.R., SHOEMAKER W.C. Common bile duct anastomosis using fibrin glue. *Arch. Surg.* 1985; 120:1250-1256.

KRAM H.B., NATHAN R.C., MACKABEE J.R., KLEIN S.R., SHOEMAKER W.C. Clinical use of nonautologous fibrin glue. *Am. Surgeon* 1988a; 54:570-573.

KRAM H.B., REUBEN B.I., FLEMING A.W., SHOEMAKER W.C. Use of fibrin glue in hepatic trauma. *J. Trauma* 1988b; 28:1195-1201.

KRAM H.B., NATHAN R.C., STAFFORD F.J., FLEMING A.W., SHOEMAKER W.C. Fibrin glue achieves hemostasis in patients with coagulation disorders. *Arch. Surg.* 1989; 124:385-387.

KRAM H.B., BANSAL M., TIMBERLAKE O., SHORMAKER W.C. Antibacterial effects of fibrin glue-antibiotic mixtures. J. Surg. Res. 1991; 50:175-178.

KUMAR M.S.A., WHITE A.G., ALEX G., ANTOS M.S., PHILIPS B.M., ABOUNA G.M. Correlation of blood levels and tissue levels of cyclosporine with the histologic features of cyclosporine toxicity. Transplant. Proc. 1988; 20:407-413.

KURODA Y., SUZUKI Y., KAVAMURA T., FUJIWARA H., ASHIDA T., MATSUO M., YAMAMOTO K., TANAKA T., SAITOH Y. Pancreatic secretory trypsin inhibitor as a marker for early detection of rejection in canine pancreas allotransplantation. Transplantation 1988; 46:493-495.

KYRIAKIDES G.K., ARORA V.K., LIFTON J., NUTTALL F.Q., MILLER J. Porcine pancreatic transplantation. I. Autotransplantation of duct-ligated segments. J. Surg. Res. 1976a; 20:451-460.

KYRIAKIDES G.K., ARORA V.K., LIFTON J., NUTTALL F.Q., MILLER J. Porcine pancreatic transplants. II. Allotransplantation of duct-ligated segments. J. Surg. Res. 1976b; 20:461-466.

KYRIAKIDES G.K., NUTTALL F.Q., MILLER J. Segmental pancreatic transplantation in pigs. Surgery 1979a; 85:154-158.

KYRIAKIDES G.K., SUTHERLAND D.E.R., OLSON L., MILLER J., NAJARIAN J.S.  
Segmental pancreatic transplantation in dogs. Transplant. Proc. 1979b;  
11:530-532.

KYRIAKIDES G.K., TUTTALL F., MILLER J. Intraperitoneal segmental  
pancreatic allografts with unligated ducts in pigs. Transplant. Proc.  
1979c; 11:527-529.

KYRIAKIDES G.K., RABINOVITCH A., MINTZ D., OLSON L., RAPAPORT F.T.,  
MILLER J. Long-term study of vascularized free-draining intraperitoneal  
pancreatic segmental allografts in beagle dogs. J. Clin. Invest. 1981;  
67:292-303.

LANDA GARCIA I., ARIAS DIAZ J., GOMEZ GUTIERREZ M., ORTEGA MEDINA  
L., LLANOS K., MARTOS A., ORTUÑO B., BALIBREA CANTERO J.L. Efecto de la  
somatostatina sobre la supervivencia y los niveles de PGE<sub>2</sub> en un modelo  
de pancreatitis aguda necrohemorrágica en el perro. Gastroenterol.  
hepatol. 1991; 14:481-487.

LANDGRAF R., LANDGRAF-LEURS M.M.C., BURG D., KAMPIK A., CASTRO L.A.,  
ABENDROTH A., ILLNER W.D., LAND W. Long-term follow-up of segmental  
pancreas transplantation in type I diabetics. Transplant. Proc. 1986;  
18:1118-1124.

LANDGRAF R., LANDGRAF-LEURS M.M.C., NUSSER J., HILLEBRAND G., ILLNER  
W.D., ABENDROTH D., LAND W. Effect of somatostatin analogue(SMS 201-  
995) on cyclosporine levels. Transplantation 1987; 44:724-725.



LARGIADER F., BAUNGARTNER D., UHLSCHMID G. Ischemia tolerance of human pancreatic transplants. *Transplant. Proc.* 1984; 16:1285-1286.

LARRAD JIMENEZ A. Tesis Doctoral. Universidad Complutense. Facultad de Medicina. Madrid, 1980.

LERNER R., BINUR H.S. Current status of surgical adhesives. *J. Surg. res.* 1990; 48:165-181.

LICHTENSTEIN I.L., BARSCHAK R.M. Experimental transplantation of the pancreas in dogs. *J. Int. Coll. Surg.* 1957; 28:1-6.

LILLEHEI R.C., SIMMONS R.L., MAJARIAN J.S., WEIL R., UCHIDA H., RUIZ J.O., KJELLSTRAND C.M., GOETZ F.C. Pancreatico-duodenal allotransplantation: experimental and clinical experience. *Ann. Surg.* 1970; 172:405-436.

LIN S.M.L., WHITE D.J.G., CALNE R.Y. Cyclosporine coverage during the risk period leads to 100% long-term graft acceptance in the rat. *Transplant. Proc.* 1988; 20:1013-1015.

LINBERG B., KOMMERELL B. Treatment of acute pancreatitis with somatostatin. *N. Engl. J. Med.* 1980; 303:284.

LINDSEY W.J., INGRAM H.P., NOLAN M.S., BOYLE P.F., HEROLD A., BECK S., CLARK A., SLATER D.W., FOX M. Infection as a complication of Roux-en-Y

loop jejunal draining rat pancreas grafts, including the effect of cyclosporine A. *Transplant. Proc.* 1984; 16:797-798.

LIU T., SUTHERLAND D.E.R., HEIL J., DUNNING M., MAJARIAN J.S. Beneficial effects of establishing pancreatic duct drainage into a hollow organ (bladder, jejunum, or stomach) compared to free intraperitoneal drainage or duct injection. *Transplant. Proc.* 1985a; 17:366-371.

LIU T., SUTHERLAND D.E.R., CHINN P.L., MAJARIAN J.S. Effect of a cyclic hexapeptide analog (L363,586) of somatostatin on the function of pancreas grafts in dogs. *J. Surg. Res.* 1985b; 39:39-45.

LIU T., SUTHERLAND D.E.R., BORNER J., HEIL J., MAJARIAN J.S. Exocrine secretion of canine pancreas segmental grafts one year after transplantation compared with that of fresh segments prepared in situ. *Transplant. Proc.* 1987; 19:1008-1010.

LORENZ D., DOMAGK A. The application of fibrin sealant in segmental pancreas transplantation. In: *Progress in Fibrin Sealing*. Hans-Werner Wacławiczek (Ed.). Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. 1989; 97-104.

MALLORY A., KERN F. Drug-induced pancreatitis : a critical review. *Gastroenterology* 1980; 78:813-820.

MARGREITER R., KÖNIGSRÄINER A., STEINER E., SCHMID T., PERNTHALER H. Improved results of pancreatic transplantation with the delayed duct occlusion technique. *Transplant. Proc.* 1988; 20:889-890.

**MARKS V.H., BORGSTRÖM A., MARKS C.R., SOLLINGER H., LORBER M.I.** Serum markers for pancreas rejection: long-term behaviour following clinical pancreatico-duodenal transplantation. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1596-1597.

**MARSH C.L., PERKINS J.D., SUTHERLAND D.E.R., CORRY R.J., STERIOFF S.** Combined hepatic and pancreaticoduodenal procurement for transplantation. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1989; 168:254-258.

**MATRAS H., DINGES H.P., LASSMANN H., MANOLI B.** Zur nahtlosen interfaszikulären nerventransplantation im tierexperiment. *Wien. Med. Wschr.* 1972; 122:517-523.

**MATRAS H., MANOLI B., LASSMANN H.** Zur klebung von nervenanastomosen mit gerinnungssubstanzen. *Fortschr. Kleber-Gesichts-Chir.* 1975a; 20:112-114.

**MATRAS H., KUDERNA H.** Glueing nerve anastomoses with clotting substances. *Internat. Kongr. f. Plast. u. Rekonstr. Chir.* 6, Paris 1975b; 134-136.

**MAYS E.T., CONTI S., HALLANZADEH H., ROSENBLATT M.** Hepatic artery ligation. *Surgery* 1979; 86:536-543.

**MCCARTHY P.M., TRASTEK V.F., SCHAFF H.V., WEILAND L.H., BERNATZ P.E., PAYNE W.S., PAIROLERO P.C.** Esophagogastric anastomoses: the value of fibrin glue in preventing leakage. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1987; 93:234-239.

McPHERDAN M.T., ATTISHA R.A., BIDY P. Pancreatic autotransplantation. Transplant. Proc. 1982; 14:709-713.

MEISNER H., STRUCK E., SCHMIDT-HABELMANN P., SEBENING F. Fibrin seal application. Clinical experience. Thorac. cardiovasc. Surgeon 1982; 30:232-233.

MITCHELL R.I., RAPPAPORT A.M., DAVIDSON J.K. Autotransplantation of the pancreas. Can. J. Surg. 1966; 9:192-197.

MITCHELL R.I., DAVIDSON J.K. Heterotopic autotransplantation of the canine pancreas. Surgery 1967; 62:454-461.

MITTAL V.K., TOLEDO-PEREYRA L.H., PROUGH D., FRANTZIS P. Effect of graft pancreatitis on the outcome of whole pancreatic transplants. Transplant. Proc. 1989; 21:2856-2857.

MITTAL V.K., TOLEDO-PEREYRA L.H. Urinary cytology as a complementary marker of rejection in combined kidney and pancreatic transplants with urinary drainage. Transplant. Proc. 1990; 22:629-631.

MONTGOMERY A., KALLEN R., BORGSTRÖM A., HAGLUND U. Duodenal mucosal pH as a reperfusion indicator in pancreatic-duodenal transplantation in the pig. Transplantation 1992; 53:312-316.

MOREL P., MUDRY-MUNNS K., MAJARIAN J.S., GRUESNER R., DUNN D.L., SUTHERLAND D.E.R. Influence of preservation time on outcome and

metabolic function of bladder-drained pancreas transplants. *Transplantation* 1990; 49:294-303.

MOREL P., SCHLUMPF R., DUNN D.L., MOUDRY-MUNNS K., NAJARIAN J.S., SUTHERLAND D.E.R. Pancreas retransplants compared with primary transplants. *Transplantation* 1991a; 51:825-833.

MOREL P., GILLINGHAM K.J., SCHLUMPF R., CHAU C., MOUDRY-MUNNS K., PAYNE W.D., NAJARIAN J.S., SUTHERLAND D.E.R., DUNN D.L. Effect of simultaneous liver retrieval, retrieval team, and preservation time on cadaver whole-organ, bladder-drained pancreatic allograft survival rates. *Transplant. Proc.* 1991b; 23:1640-1642.

MOREL P., KAUFMANN D.B., MATAS A.J., TZARDIS P., FIELD M.J., LLOVERAS J.K., SUTHERLAND D.E.R. Total pancreatectomy in the pig for islet transplantation. Technical alternatives. *Transplantation* 1991c; 52:11-15.

MORENO AZCOITIA M., LANDA GARCIA J.I., GOMEZ GUTIERREZ M., JOVER NAVALON J.M., RUIZ DE ADANA J.C., SANCHEZ-URDAZPAL L., RAMOS RODRIGUEZ J.L. La fístula arteriovenosa distal en el transplante segmentario de páncreas en el perro. *Cir. Esp.* 1989a; 45:258-264.

MORENO AZCOITIA M., LANDA GARCIA J.I., GOMEZ GUTIERREZ M., JOVER NAVALON J.M., ORTEGA L., RUIZ DE ADANA J.C., SANCHEZ-URDAZPAL L. Autotrasplante de páncreas. Función a largo plazo de un modelo experimental. *Cir. Esp.* 1989b; 45:382-390.

MORRIS G.E., WILLIAMS S.R., PROCTOR E., GADIAN D.G., BROWSE M.L.  
Phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy studies in the acute rejection of rat pancreatic allografts. *Transplant. Proc.* 1987; 19:3903-3905.

MUHLBACHER F., GHANT M.F.X., AUINGER M., STEININGER R., KLAUSER R., PRAGER R., KARNEL F. Pancreatic venous drainage to the portal vein: a new method in human pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1990; 22:636-637.

MULLER M.K., BERGMANN K., DEGENHARDT H., KLÖPPEL G., LÖHR M., COONE H.J., GOEBELL H. Differential sensitivity of rat exocrine and endocrine pancreas to cyclosporine. *Transplantation* 1988; 45:698-700.

MUNDA R., TOM W.W., FIRST M.R., GARTSIDE P., ALEXANDER J.W. Pancreatic allograft exocrine urinary tract diversion: pathophysiology. *Transplantation* 1987; 43:95-99.

MUNDA R., SCHROEDER T.J., PEDERSEN S.A., CLARDY C.W., VADHWA H.K., MYRE S.A., STEPHENS G.W., PESCE A.J., ALEXANDER J.W., FIRST M.R. Cyclosporine pharmacokinetics in pancreas transplant recipients. *Transplant. Proc.* 1988; 20:487-490.

MUSA B.E., NELSON A.W., GILLETTE E.L., FERGUSON H.L., LUMB W.V. A model to study pancreatitis in the dog. *J. Surg. Res.* 1976; 21:51-56.

NAKACHE R., TYDEN G., GROTH C.G. Quality of life in diabetic patients after combined pancreas-kidney or kidney transplantation. *Diabetes* 1989; 38:40-42.

NATHAN D.M., FOGEL H., NORMAN D., RUSSELL P.S., TOLKOFF-RUBIN M., DELMONICO F.L., AUCHINCLOSS H., CANUSO J., COSIMI A.B. Long-term metabolic and quality of life results with pancreatic/renal transplantation in insulin-dependent diabetes mellitus. *Transplantation* 1991; 52:85-91.

NGHIEM D.D., PITZEN R. H., CORRY R.J. Evaluation of techniques of controlling exocrine drainage after segmental pancreatectomy in dogs. *Arch. Surg.* 1985; 120:1132-1137.

NICHOLSON C.P., BARR D., OELTJEN M.R., MUNN S.R., DIMAGNO E.P., CARPENTER H.A., SARR M.G., PERKINS J.D. The effect of somatostatin 201-995 on the early course of porcine pancreaticoduodenal allotransplantation. *Transplantation* 1991a; 51:31-36.

NICHOLSON C.P., BARR D., OELTJEN M.R., MUNN S.R., DIMAGNO E.P., CARPENTER H.A., SARR M.G., PERKINS J.D. The effect of somatostatin 201-995 on the early course of porcine pancreaticoduodenal allotransplantation. *Transplant. Proc.* 1991b; 23:1587-1588.

NISHIMURA Y., UCHIDA H., TAKEMURA F., ICHIKAWA M., KAWAGUCHI G., SATO Y., SHIMIZU K., NIGATA K., WATANABE K., BECK Y., MITA K., TOMIKAWA S., INOUE S., SUGIMOTO H., NAGAO T., AKIYAMA M. Electrolyte imbalance after

canine pancreaticoduodenal allotransplantation using duodenocystostomy technique. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1625-1627.

NORDLINGER B., DOUVIN D., JAVAUDIN L., BLOCH P., ARANDA A., BOSCHAT M., HUGUET C. An experimental study of survival after two hours of normothermic hepatic ischemia. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1980; 150:859-864.

NUBIOLA P., BADIA J.M., MARTINEZ-RODENAS F., GIL M.J., SEGURA M., SANCHO J., SITGES-SERRA A. Treatment of 27 postoperative enterocutaneous fistulas with the long half-life somatostatin analogue SMS 201-995. *Ann. Surg.* 1989; 210:56-58.

NYSTRÖM P., JOHANSSON L., LENNQVIST S. Intra-operative saline irrigation of the peritoneal cavity in experimental post-traumatic peritonitis. *Acta Chir. Scand.* 1983; 149:509-515.

OH H.K., SHAMASH F.S., DIENST S., LEE M.W. The use of antiplatelet agents on canine whole organ pancreas allografts. *Transplant. Proc.* 1988; 20(Suppl 1):910-911.

OKA H., HARRISON R.C., BURHEWNE H.J. Effect of a biologic glue on the leakage rate of experimental rectal anastomoses. *Am. J. Surg.* 1982; 143:561-564.

ORLOFF M.J., GREENLEAF G., GIRARD B. Reversal of diabetic somatic neuropathy by whole-pancreas transplantation. *Surgery* 1990; 108:179-190.



ORTEGA SERRANO J., MENDOZA AROCA A. Experimental left pancreas segmental autotransplantation in dogs. I. Anatomical aspects. Res. Surg. 1990; 2:72-75.

PADBERG V.M., MORGALLA H., BUHR J., HILD P., SCHWENMLE K. Immunosuppressive action of somatostatin analogue SMS 201-995 and their synergistic effect with low-dose cyclosporine A in organ transplantation. Transplant. Proc. 1991; 23:348.

PARDO CORRECHER J.M., MEDRANO HEREDIA J., BARRAGAN ORTIZ J., DIEZ MIRALLES M., VAZQUEZ ROJAS J.L., CALPENA RICO R. La somatostatina como inhibidor de la función ductal del páncreas canino. Gastroenterol. Hepatol. 1988; 11:16-21.

PERA MADRAZO C., VARO E., RUFIAN S., LOPEZ P., DE LA CRUZ J., MANZANO J.R., BENITO P., ALJAMA P., LLANAS J.L. Transplante de páncreas. Experiencia en el inicio de un programa. Cir. Esp. 1990; 48:266-275.

PERKAL M., MARKS CH., LORBER M.I., MARKS W.H. A three-year experience with serum anodal trypsinogen as a biochemical marker for rejection in pancreatic allografts. Transplantation 1992; 53:415-419.

PERKINS J.D., MUNN S.R., BARR D., FERGUSON D.C., CARPENTER H.A. Evidence that the soluble interleukin 2 receptor level may determine the optimal time for cystoscopically-directed biopsy in pancreaticoduodenal allograft recipients. Transplantation 1990; 49:363-366.

PERSSON B.G., JEPPSSON B., ANDERSSON L., STRAND S.E., EKLUND L., BENGMARK S. The prevention of arterial collaterals after repeated temporary blockade of the hepatic artery in pigs. *World J. Surg.* 1987; 11:672-677.

PETRELLI N.J., COHEN H., DERISI D., AMBRUS J.L., WILLIAMS P. The application of tissue adhesives in small bowel anastomoses. *J. Surg. Oncol.* 1982; 19:59-61.

PIENAAR B.H., STAPLETON G.M., BRACHER M., LOTZ Z., INNES C.R., FOURIE J., HICKMAN R. Six-hour porcine liver storage without flushing or perfusion. *Transplantation* 1991; 52:38-43.

PRIETO M., SUTHERLAND D.E.R., FERNANDEZ-CRUZ L., HEIL J., MAJARIAN J. Eficacia de la ciclosporina en el trasplante experimental de páncreas. *Rev. Quir. Esp.* 1988; 15:42-44.

PRINZ R.A., PICKLEMAN J., HOFFMAN J.P. Treatment of pancreatic cutaneous fistulas with a somatostatin analog. *Am. J. Surg.* 1988; 155:36-42.

QUINTANA RODRIGUEZ A., GARCIA SABRIDO J.L., VALDECANTOS MONTES E. La somatostatina en el tratamiento de las fistulas pancreáticas e intestinales. *Cir. Esp.* 1986; 40:1225-1229.

RAUSIS C., CHOUDHURY A., OGATA Y. Influence of pancreatic duct anastomosis on function of autotransplanted canine pancreatic segments. *J. Surg. Res.* 1970; 10:551-557.

REEMTSMA K., LUCAS J.F., ROGERS R.E., SCHMIDT F.E., DAVIS F.H. Islet cell function of the transplanted canine pancreas. *Ann. Surg.* 1963; 158:645-649.

REYL-DESMARS F., LEVIN M.J.M. Evidence for an intracellular somatostatin receptor in pancreas: a comparative study with reference to gastric mucosa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1982; 109:1324-1331.

RICORDI C., STARZL T.E. Cellular transplants. *Transplant. Proc.* 1991; 23:73-76.

RICORDI C., TZAKIS A.G., CARROLL P.B., ZENG Y., RODRIGUEZ RILO H.L., ALEJANDRO R., SHAPIRO R., FUNG J.J., DEMETRIS A.J., MINTZ D.H., STARZL T.E. Human islet isolation and allotransplantation in 22 consecutive cases. *Transplantation* 1992; 53:407-414.

RODBARD D., LEWALD J.E. Computer analysis of radioligand assay and radioimmunoassay data. *Acta Endocrinologica* 1970; 64:79-103.

ROSCH W., BEBHARDT C.H. Prolamine solution to block pancreatic duct. *Lancet* 1979; 2:1131.

ROSENBERG L., DAFOR D.C., SCHWARTZ R., CAMPBELL D.A., TURCOTTE J.G., TSAI S., VINIK A. Administration of somatostatin analog (SMS 201-995) in the treatment of a fistula occurring after pancreas transplantation. *Transplantation* 1987; 43:764-766.

ROSSI R.L., SOELDNER J.S., BRAASCH J.W., HEISS F.W., SHEA J.A., WATKINS E., SILVERMAN M.L. Long-term results of pancreatic resection and segmental pancreatic autotransplantation for chronic pancreatitis. *Am. J. Surg.* 1990; 159:51-58.

ROTSTEIN O.D., PRUETT T.L., SIMMONS R.L. Fibrin in peritonitis. V. Fibrin inhibits phagocytic killing of Escherichia Coli by human polymorphonuclear leukocytes. *Ann. Surg.* 1986; 203:413-419.

SACHS D.H., LEIGHT G., CONE J., SCHWARZ S., STUART L., ROSENBERG S. Transplantation in miniature swine. I. Fixation of the major histocompatibility complex. *Transplantation* 1976; 22:559-567.

SANCHEZ GARCIA CERVIGON P., FERNANDEZ NAVARRO J.I., SALMERON DE DIEGO J., CABALLERO ASENCI A., CORNELIO HERNANDEZ F., JARA ALBARRAN A. Tratamiento preoperatorio de la hipoglucemia debida a un insulinoma con el análogo de somatostatina SMS 201-995. *Med. Clin(Barc)* 1987; 89:511-513.

SANCHEZ GONZALEZ M.A. Experimentación y derechos de los animales: su historia y fundamentos éticos. *Med. Clin.(Barc)* 1990; 95:217-220.

SCHANG T., TIMMERMAN V., THIEDE A., NAJARIAN J.S., SUTHERLAND D.E.R. Detrimental effects of fluid and electrolyte loss from duodenum in bladder-drained pancreas transplants. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1617-1618.

SCHLUMPF R., HUNZIKER D., DECURTINS M., KRUSCH G., LARGIADER F.  
Thrombocytosis following segmental duct-occluded pancreatic  
transplantation. *Transplant. Proc.* 1990a; 22:658-660.

SCHLUMPF R., MOREL PH., SUTHERLAND D., MOUDRY-MUNNS K., GRUESSENER R.,  
PAYNE W., DUNN D. Combined procurement of pancreas and liver grafts  
does not affect transplant outcome. *Transplant. Proc.* 1990b; 22:2074-  
2075.

SCHRÖDER T., MILLARD R.V., NAKAJIMA Y., GABEL M., JOFFE S.M.  
Microcirculatory effects of somatostatin in acute pancreatitis. *Eur.*  
*Surg. Res.* 1988; 20:82-88.

SCHULAK J.A., SHARP W.J. Graft irradiation abrogates graft-versus-host  
disease in combined pancreas-spleen transplantation. *J. Surg. Res.* 1986;  
40:326-331.

SCHULAK J.A., ENGELSTAD K.M. Immunologic consequences of combined  
pancreas-spleen transplantation in the rat. *J. Surg. Res.* 1989; 47:52-  
58.

SCHWARTZ R.J., DUBROW T.J., RIVAL R.A., WILSON S.E., WILLIAMS R.A. The  
effect of fibrin glue on intraperitoneal contamination in rats treated  
with systemic antibiotics. *J. Surg. Res.* 1992; 52:123-126.

SCHWEIZER R.T., SUTPHIN B.A., PFAU P.F., CALALUCE R.D., BERMAN M.M. Duct management of segmental pancreatic allografts in pigs. *Transplant. Proc.* 1984; 16:756-759.

SECCHI A., SIRONI S., LA ROCCA E., CALDARA R., DI CARLO V., MARTINENGHI S., STAUDACHER C., DEL MASCHIO A., POZZA G. Magnetic resonance imaging after pancreas and kidney transplantation. *Transplant. Proc.* 1990a; 22:1603-1604.

SECCHI A., DUBERNARD J.M., MELANDRI M., LEFRANCOIS N., MARTINENGHI S., MARTIN X., TRAEGER J., POZZA G. Long-term metabolic effects of segmental pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1990b; 22:1591-1592.

SECCHI A., DUBERNARD J.M., LA ROCCA E., LEFRANCOIS N., MELANDRI M., MARTIN X., TOURAINE J.L., TRAEGER J., POZZA G. Endocrinometabolic effects of whole versus segmental pancreas allotransplantation in diabetic patients. A two-year follow-up. *Transplantation* 1991; 51:625-629.

SELLS R.A., CALNE R.Y., HADJIYANAKIS V., MARSHALL V.C. Glucose and insulin metabolism after pancreatic transplantation. *Br. Med. J.* 1972; 3:678-681.

SENNINGER N., MOODY F.G., VAN BUREN D.H., COELHO J.C.U. Pancreatic intestinalization in dogs: a new method to prevent lethal shock in acute pancreatitis (abstr.). *Gastroenterology* 1984; 86(5/2):1244.

SENNINGER H., MOODY F.G., COELHO J.C.U., VAN BUREN D.H. Endocrine function of intestinalized pancreatic fragments in dogs (abstr.) *Gastroenterology* 1985; 88:1581.

SENNINGER H., MOODY F.G., VAN BUREN D.H., COELHO J.C.U. Intestinalization of pancreatic fragments in dogs. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1986; 162:355-360.

SENNINGER H., MOODY F.G., COELHO J.C.U., VAN BUREN D.H. Intestinalization of pancreatic fragments in dogs: improvement in survival rate after acute segmental pancreatitis. *Am. J. Surg.* 1987; 153:364-368.

SHAH K., BITTER-SVERMAN H.G., SODERBERGH S. Morphological findings in duct ligated pancreas grafts in the rat. *Transplantation* 1980; 30:83-89.

SHIENVOLD F.L., ALEJANDRO R., MINTZ D.H. Identification of Ia-bearing cells in rat, dog, pig, and human islets of Langerhans. *Transplantation* 1986; 41:364-372.

SHOKOUH-AMIRI M.H., RAHIMI-SABER S., ANDERSEN H.O. Segmental pancreatic autotransplantation in the pig. *Transplantation* 1989; 47:42-44.

SIBLEY R.K. Pancreas Transplantation. En: SALE G.E. ed. The Pathology of organ transplantation. Butterworths, 1990; 179-215.

SKJENNALD A. Angiography in acute experimental pancreatitis correlated to hemodynamic changes; chap.1. Anatomy of liver and pancreas in the domestic swine with special reference to vascular structures. *Scand. J. Gastroenterol.* 1982; 17(Suppl 73):16-31.

SMITH J.L., SEE W.A., AMES S.A., PIPER J.B., CORRY R.J. Lower urinary tract complications in patients with duodenocystostomies for exocrine drainage of the transplanted pancreas. *Transplant. Proc.* 1991; 23:1611-1612.

SOLLINGER H.V., KALAYOGLU M., HOFFMAN R.M., BELZER F.O. Results of segmental and pancreaticosplenic transplantation with pancreaticocystostomy. *Transplant. Proc.* 1985; 17:360-362.

SOON-SHIONG P., ZHENG T.L., MERIDETH M., CHANG Y.H. Elevation in urinary prostaglandin (PGE<sub>2</sub>) as an early marker of pancreas allograft rejection. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2771-2773.

SPANGLER H.P. Gewebeklebung und lokale blutstillung mit fibrinogen, trombin und blutferinnungsfaktor XIII. (Experimentelle untersuchungen und klinische erfahrungen). *Wien. Klin. Wschr.* 1976; 88:1-18.

SPILLENAAAR BILGEN E.J., MARQUET R.L., BAUNGARTNER D., DE BRUIN R.W.F., LAMBERTS S.W.J., JEEKEL J. Attempts to reduce post-transplant pancreatitis in rats and dogs with the somatostatin analogue SMS 201-995. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2829-2830.



STARK J., DE LEVAL M. Experience with fibrin seal(Tisseel) in operations for congenital heart defects. *Ann. Thorac. Surg.* 1984; 38:411-413.

STARZL T.E., IWATSUKI S., SHAW B.W., GREENE D.A., VAN THIEL D.H., MALESNIK M.A., NUSBACHER J., DILIZ-PERE H., HAKALA T.R. Pancreaticoduodenal transplantation in humans. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1984; 159:265-272.

STEINER E., LANDGRAF R., LAND W., GRUNER P., SCHNEEBERGER H., STANGL M., STEINER W., ARNHOLDT H. Somatostatin: progress in segmental pancreas transplantation? An experimental study of canine duct-occluded grafts. *Transplant. Proc.* 1984; 16:760-761.

STENZL W., RIGLER B., TSCHELIESSWIGG K.H., BEITZKE A., METZLER H. Treatment of postsurgical chylothorax with fibrin glue. *Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1983; 31:35-36.

STERIOFF S., MARSH C.L., MUNN S.R., HAYES D.H., PERKINS J.D. Pancreaticoduodenal allograft procurement in combination with liver allograft procurement. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2767-2768.

SUTHERLAND D.E.R., GOETZ F.C., MAJARIAN J.S. Intraperitoneal transplantation of immediately vascularized grafts without duct ligation. *Transplantation* 1979; 28:485-491.

SUTHERLAND D.E.R., KENDALL D. Clinical pancreas and islet transplant Registry Report. *Transplant. Proc.* 1985; 17:307-311.

SUTHERLAND D.E.R., MOUDRY K.C. Pancreas transplantation Registry report. Transplant. Proc. 1989a; 21:2759-2762.

SUTHERLAND D.E.R., DUNN D.L., GOETZ F.C., KENNEDY W., RAMSAY R.C., STEFFES M.W., MAUER S.M., GRUESNER R., MOUDRY-MUNNS K.C., MOREL P., VISTE A., ROBERTSON R.P., NAJARIAN J.S. A 10-year experience with 290 pancreas transplants at a single institution. Ann. Surg. 1989b; 210:274-288.

SUTHERLAND D.E.R., MOUDRY-MUNNS K.C. International pancreas transplantation Registry analysis. Transplant. Proc. 1990; 22:571-574.

SUTHERLAND D.E.R., GILLINGHAM K., MOUDRY-MUNNS K.C. Registry report on clinical pancreas transplantation. Transplant. Proc. 1991a; 23:55-57.

SUTHERLAND D.E.R., MOUDRY-MUNNS K.C., GILLINGHAM K., NAJARIAN J.S., DUNN D.L. Solitary pancreas transplantation: alone in nonuremic and after a kidney in uremic diabetic patients. Transplant. Proc. 1991b; 23:1637-1639.

SWINDLE M.M. Swine as replacements for dogs in the surgical teaching and research laboratory. Lab. Animal Sci. 1984; 34:383-385.

TAKAHASHI N., KONOSHI K., IZUMI R., SEKINO H., KATO O., MIYAZAKI I. Prostaglandins in experimental pancreatic transplantation. Transplant. Proc. 1987; 19:1031-1033.

TARGARONA E.M., FERNANDEZ-CRUZ L., CASAS A., RIBERA M.T., COLONER J., PI F., SAENZ A., HOTTER G. Fármacos inmunosupresores y función pancreática. *Gastroenterol. Hepatol.* 1990; 13:20-26.

TARGARONA E.M., HOTTER G., LOPEZ-BOADO M.A., RAMOS E., CLOSA D., ROSELLO J., PUIG-PARELLADA P., GELPI E., FERNANDEZ-CRUZ L. Experimental pancreas transplantation: prevention of lipid peroxidation in the ischemia-reperfusion syndrome. *Transplant. Proc.* 1992; 24:9-10.

TASHIRO S., MURATA E., HIRAOKA T., NAKAKUMA K., WATANABE E., MIYAUCHI Y. New technique for pancreaticojejunostomy using a biological adhesive. *Br. J. Surg.* 1987; 74:392-394.

TATTERSALL R. Is pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus worthwhile? *N. Engl. J. Med.* 1990; 322:1608-1609.

TEIXEIRA E.D., BERGAN J.J. Hemorrhagic necrosis in pancreas allografts. *Arch. Surg.* 1967; 95:79-82.

TEJERO CEBRIAN E., ARIAS PEREZ J., LORENZO RUIGOMEZ L., ALLER REYERO M.A., JIMENEZ GARCIA-ALZORRIZ G., MEDINA ALVAREZ J.C., RODRIGUEZ GOMEZ J., ARRIBAS PEREZ P., ARIAS FERNANDEZ L., BRANDAU BALLNET D., DURAN SACRISTAN H. Técnicas de microcirugía vascular en el autotrasplante de páncreas en el perro. *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.* 1986; 70:1-12.

TERBLANCHE J., HICKMAN R., SHIPPEL R.M., DENT D.M., SPILG H., IMMELMAN E.J., DU TOIT E., UYS C.J., SAUNDERS S.J. Prolonged survival of

vascularized organ allografts in unimmunosuppressed pigs. *Transplant. Proc.* 1973; 5:749-754.

THETTER O. Fibrin adhesive and its application in thoracic surgery. *Thorac. cardiovasc. Surgeon* 1981; 29:290-292.

THOMAS F.T., BOGEY W.T., CASTELLANI W., KHAZANIE P., VIOLA C., STELZER D., SASH C., THOMAS J. Correlation of levels of urinary insulin with pancreatic allograft dysfunction in bladder-drained experimental and clinical pancreas transplants. *Transplant. Proc.* 1988; 20:884-886.

THOMPSON R.K., LUM C.T., DAVIS J.R., KNABEL C.E. Irradiation to reduce exocrine secretion in porcine segmental pancreas transplantation. *Transplant. Proc.* 1988; 20:906-907.

TIBELL A., TYDEN G., BRATTSTRÖM C., MAINETTI L., GROTH C.G. Surgical complications after segmental pancreatic transplantation with enteric exocrine diversion. *Transplant. Proc.* 1989; 21:2801-2802.

TOLEDO-PEREYRA L.H., CASTELLANOS J., LAMPE E.W., LILLEHEI R.C., NAJARIAN J.S. Comparative evaluation of pancreas transplantation techniques. *Ann. Surg.* 1975; 182:567-571.

TOLEDO-PEREYRA L.H., CASTELLANOS J. The role of pancreatic duct ligation for segmental pancreas autotransplantation. *Transplantation* 1979; 28:469-475.

TOLEDO-PEREYRA L.H. (ed.) Pancreas Transplantation. Kluwer Academic Publishers, 1988.

TOLLEMAR J., TYDEN G., BRATTSTRÖM C., GROTH C.G. Anticoagulation therapy for prevention of pancreatic graft thrombosis: benefits and risks. Transplant. Proc. 1988; 19:479-480.

TOLLEMAR J., GROTH C.G., KORSGREN O., ANDERSSON A., BLONBÄCK M., OLSSON P. Injection of xenogeneic endocrine pancreatic tissue into the portal vein. Effects on coagulation, liver function and hepatic hemodynamics. A study in the pig-to-dog model. Transplantation 1992; 53:139-142.

TORRES A.J., LANDA J.I., MORENO-AZCOITIA M., ARGUELLO J.M., SILECCHIA G., CASTRO J., HERNANDEZ-MERLO F., JOVER J.M., MORENO-GONZALEZ E., BALIBREA J.L. Somatostatin in the management of gastrointestinal fistulas. A multicenter trial. Arch. Surg. 1992; 127:97-100.

TRAVERSO L.W., MACFARLANE S. Pancreas autotransplantation. Unsuitability of the swine as a model. Transplantation 1987a; 44:450-451.

TRAVERSO L.W., MACFARLANE S.K. Pancreatic juice in the peritoneal cavity: antibiotics or omental preservation prevent mortality. J. Surg. Res. 1987b; 43:220-225.

TRAVERSO L.W. 1988. (comunicación personal).

TSCHELIESSNIGG K.H., HERMANN V., DACAR D., STENZL W., HOLLERL G.  
Fibrinklebung. Eine Übersicht über Entwicklung, Technik und derzeitigen  
Stand. Scientific Workshop 1981, Graz. Symposiumsband: 5-10.

TUREGANO FUENTES F., GARCIA MENENDEZ C., LARRAD JIMENEZ A., DOMINGUEZ  
CONESANA E., SANZ SANCHEZ M., PEREZ GALLARDO A. The feasibility of  
porcine pancreas autotransplantation: a case for controversy.  
Transplantation 1990; 49:1028-1029.

TURNER-WARWICK R., KIRBY R.S. The construction and reconstruction of the  
vagina with the colocecum. Surg. Gynecol. Obstet. 1990; 170:132-136.

TUROWSKI G., SCHAADT M., BARTHELS M., DIEHL V., POLIWODA H.  
Unterschiedlicher Einfluss von Fibrinogen und Faktor XIII auf das  
Wachstum von primär und Kulturfibroblasten. In: Fibrinogen, Fibrin und  
Fibrinkleber. Schimpt F.(ed.). Stuttgart, FK Schattauer Verlag,  
1980:227-237.

TÜRK R., WEIDRINGER J.W., HARTEL W., BLÜMEL G. Closure of lung leaks by  
fibrin gluing. Experimental investigations and clinical experience.  
Thorac. Cardiovasc. Surg. 1983; 31:185-186.

TYDEN G., WILCZEK H., LUNDGREN G., ÖSTMAN J., GUNNARSSON R., JAREMKO G.,  
GROTH C.G. Experience with 21 intraperitoneal segmental pancreatic  
transplants with enteric or gastric exocrine diversion in humans.  
Transplant. Proc. 1985; 17:331-335.

TYDEN G., BRATTSTRÖM C., LUNDGREN G., ÖSTMAN J., GUNNARSSON R., GROTH C.G. Improved results in pancreatic transplantation by avoidance of nonimmunological graft failures. *Transplantation* 1987a; 43:674-676.

TYDEN G., BRATTSTRÖM CH., HÄGGMARK A., GROTH C.G. Studies on the exocrine secretion of segmental pancreatic grafts in humans. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1987b; 164:404-408.

TYDEN G., BRATTSTRÖM C., BOLINDER J., REINHOLT F., ÖSTMAN J., LUNDGREN G., WILCZEK H., GROTH C.G. Pancreatic transplantation in diabetics with preuremic nephropathy. *Transplant. Proc.* 1988; 20:471-474.

TYDEN G., BRATTSTRÖM CH., BOLINDER J., BOHMAN S., GROTH C.G., BREKKE I.B., HOLDAAS H., FLATMARK A. Long-term metabolic control in recipients of segmental pancreas grafts with pancreaticoenterostomy or duct obstruction. *Diabetes* 1989; 38:94-96.

TYGSTRUP N., FUNDING J., JUUL-NIELSEN J., KEIDING S., KOUDAHL G., RAMSÖE K., WINKLER K. The function of the isolated perfused and the in vivo pig liver. *Scand. J. Gastroent.* 1971; Suppl.9,131-138.

UPP J.R., OLSON D., POSTON G.J., ALEXANDER R.W., TOWNSEND C.M., THOMPSON J.C. Inhibition of growth of two human pancreatic adenocarcinomas in vivo by somatostatin analog SMS 201-995. *Am. J. Surg.* 1988; 155:29-35.

USADEL K.H., LEUSCHNER U., ÜBERLA K.K. Treatment of acute pancreatitis with somatostatin: a multicenter double-blind trial. *N. Engl. J. Med.* 1980; 303:999-1000.

VAN DER HAM A.C., KORT W.J., WEIJNA I.M., VAN DEN INGH H.F.G.M., JEEKEL J. Effect of fibrin sealant on the healing colonic anastomosis in the rat. *Br. J. Surg.* 1991; 78:49-53.

VAN GOOR HM., SLOOFF M.J.H., WIJFFELS R.T.M., SLUITER W.J. Beta cell response and insulin sensitivity after segmental pancreatic autotransplantation with systemic venous drainage. *Transplant. Proc.* 1986; 18:1152-1154.

VANEK I., BARTOS V., KOCANDRLE V. Prognosis of experimental pancreatic transplantation in relation to vascular reconstructive procedure. *Transplant. Proc.* 1984; 16:764-765.

VAN SCHILFGAARDE R., GOOSZEN H.G., OVERBOSCH E.H., TERPSTRA J.L. Arterial blood supply of the left lobe of the canine pancreas. I. Anatomic variations relevant to segmental transplantation. *Surgery* 1983; 93:545-548.

VAN SCHILFGAARDE R., VAN DER BURG M.P.M., VAN SUYLICHEM P.T.R., FRÖLICH M., GOOSZEN H.G., MOOLENAAR A.J. Interference by cyclosporine with the endocrine function of the canine pancreas. *Transplantation* 1987; 44:13-16.



**VARAS LORENZO M.J.** Tratamiento de los apudomas pancreáticos con el análogo de la somatostatina SMS 201-995. *Med. Clin(Barc)* 1988; 91:796.

**VARAS LORENZO M.J.** Tratamiento farmacológico de los apudomas gastroenteropancreáticos con el análogo de somatostatina SMS 201-995 (octreotide). *Rev. Esp. Enf. Digest.* 1991; 79:95-98.

**VILLAR J.** Recomendaciones de la Declaración de Helsinki sobre investigación clínica y guías principales en el cuidado y uso de animales. *Med. Clin.(Barc)* 1988; 91:702-703.

**WACLAWICZEK H.W., BOECKL O.** Die wertigkeit der additiven anastomosen- bzw. nahtversiegelung mit fibrinkleber am gastrointestinaltrakt. *Aktuel. Chir.* 1988; 23:17-20.

**WACLAWICZEK H.W., KAINDL H.** Pancreatic duct occlusion with fibrin sealant for the protection of pancreatic-digestive anastomoses following resection of the pancreatic head: experimental and clinical study. In: *Progress in Fibrin Sealing*. Hans-Werner Waclawiczek (Ed.). Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. 1989; 79-96.

**VAHLBERG J.A., LOVE R., LANDEGAARD L., SOUTHARD J.H., BELZER F.O.** 72-hour preservation of the canine pancreas. *Transplantation* 1987; 43:5-8.

**VAHLSTROM H.E., LAVELLE-JONES M., ENDRES D., AKIMOTO R., KOLTERMAN O., MOOSSA A.R.** Inhibition of insulin release by cyclosporine and production

of peripheral insulin resistance in the dog. *Transplantation* 1990; 49:600-604.

WAYAND W., PATTERMANN M., UNLAUFT M. Transplantation of Ethibloc-occluded pancreas in pigs. *Transplant. Proc.* 1980; 12(Suppl 2):135-137.

WHITEHOUSE I., BEGLINGER C., RÜTTIMANN G., GYR K. Inhibition of pentagastrin-stimulated acid secretion after subcutaneous administration of a new somatostatin analogue. *Gut* 1986; 27:141-146.

WILLIAMS P.W. Notes on diabetes treated with extract and by grafts of sheep's pancreas. *Br. Med. J.* 1894; 2:1303-1304.

WILLIAMS S.T., WOLTERING E.A., O'DORISIO T.M., FLETCHER W.S. Effect of octreotide acetate on pancreatic exocrine function. *Am. J. Surg.* 1989; 157:459-462.

WOLNER E. Fibrin gluing in cardiovascular surgery. *Thorac. cardiovasc. Surgeon* 1982; 30:236-237.

WOOD S.M., KRAENZLIN M.E., ADRIAN T.E., BLOOM S.R. Treatment of patients with pancreatic endocrine tumours using a new long-acting somatostatin analogue: symptomatic and peptide responses. *Gut* 1985; 26:438-444.

WOODLE E.S., HUNTER G.C., EISELE P., TALKEN L., WARD R.E. Orthotopic porcine liver transplantation: operative technique. *J. Surg. Res.* 1985; 39:483-488.

YALE J.F., ROY R.D., GROSE M., SEEMAYER T.A., MURPHY G.F., MARLISS E.B.  
Effects of cyclosporine on glucose tolerance in the rat. *Diabetes* 1985;  
34:1309-1313.

YALE J.F., CHAMELIAN M., COURCHESNE S., VIGEANT C. Peripheral insulin  
resistance and decreased insulin secretion after cyclosporine A  
treatment. *Transplant. Proc.* 1988; 20:985-988.

YALE J.F., AHMED S., MAHRAJH G. Effects of SMS 201-995 on the  
pharmacokinetic profile and cellular immune and toxic effects of  
cyclosporine in male wistar rats. *Transplantation* 1991; 52:336-340.

YEE G.C., ROSANO T., PTACHCINSKI R. Pharmacology: profiles, parameters,  
interpretations, and drug interactions. *Transplant. Proc.* 1988; 20:715-  
721.

YUN M., INOUE K., KAJI H., HIGASHIDE S., TAKAORI K., GU Y-J., KOGIRE M.,  
TODA S., UCHIDA K., TOBE T. The hemodynamic time course of the pancreas  
after segmental autotransplantation in dogs. *Transplant. Proc.* 1991;  
23:1648-1650.

ZIMMERMANN F.A., PISTORIUS G., GRABOWSKY K., MARZI I., SEITZ G.,  
KRÖNIGER A., MOTSCH J. A new approach to duct management in pancreatic  
transplantation: temporary occlusion with fibrin sealing and  
enterostomies. *Transplant. Proc.* 1987; 19:3941-3947.